Государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего профессионального образования
«Новосибирский государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения Российской Федерации

На правах рукописи

Шевела Александр Андреевич

МОРФОЛОГИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ ПРИМЕНЕНИЯ ФИБРИНОВОГО СГУСТКА С ПЛЮРИПОТЕНТНЫМИ СТРОМАЛЬНЫМИ КЛЕТКАМИ ДЛЯ УСКОРЕНИЯ РЕГЕНЕРАЦИИ КОСТИ НИЖНЕЙ ЧЕЛЮСТИ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология
14.01.14 – стоматология

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Научные руководители:
доктор медицинских наук, профессор
И.В. Майбородин;
доктор медицинских наук, профессор
П.А. Железный

Новосибирск – 2014

ОГЛАВЛЕНИЕ

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....4
ВВЕДЕНИЕ.....5
1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....12
1.1 Применение препарата фибрина в лечении повреждений.....12
1.2 Репарация костной ткани в условиях использования плюрипотентных стромальных клеток.....18
1.2.1 Характеристика плюрипотентных стромальных клеток и их источники.....18
1.2.2 Некоторые особенности применения плюрипотентных стромальных клеток.....19
1.2.3 Регенерация костной ткани при использовании только плюрипотентных стромальных клеток без подложек.....21
1.2.4 Адсорбция плюрипотентных стромальных клеток на матрицах с целью восстановления костей.....22
1.2.5 Применение клеточных технологий в клинической и экспериментальной стоматологии..... 26
2 МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....31
2.1 Группы животных и сроки забора материала.....31
2.2 Приготовление богатого тромбоцитами фибринового сгустка.....32
2.3 Выделение аутологичных плюрипотентных стромальных клеток.....33
2.4 Моделирование дефекта нижней челюсти и применение фибринового сгустка, аутологичных плюрипотентных стромальных клеток и их сочетания.33
2.5 Подготовка материала к исследованию морфологическими и лучевыми методами.....35
2.6 Морфометрические и статистические методы обработки результатов.35
3 ОСОБЕННОСТИ РЕГЕНЕРАЦИИ УЧАСТКА ПОВРЕЖДЕНИЯ КОСТИ НИЖНЕЙ ЧЕЛЮСТИ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ СПОСОБАХ ВЛИЯНИЯ НА РЕПАРАТИВНЫЙ ПРОЦЕСС..... 37

3.1 Регенерация кости нижней челюсти без внешнего воздействия на репаративный процесс.....37

3.2 Регенерация костной ткани в условиях применения аутологичного богатого тромбоцитами фибринового сгустка..... 39

3.3 Регенерация нижнечелюстной кости после введения аутологичных плюрипотентных стромальных клеток.....41

3.4 Регенерация костной ткани на фоне использования фибринового сгустка с плюрипотентными стромальными клетками..... 42

3.5 Изучение особенностей регенерации дефекта нижней челюсти радиовизиографическими методами..... 44

3.6 Особенности васкуляризации в процессе заживления дефекта нижнечелюстной кости..... 50

3.7 Изменения численной плотности клеток в оценке состояния поврежденного участка нижнечелюстной кости..... 59

4 ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ.....64

ВЫВОДЫ.....80

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....82

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ.....83

ПРИЛОЖЕНИЕ А (обязательное) РИСУНКИ К 2.....117

ПРИЛОЖЕНИЕ Б (обязательное) РИСУНКИ К 3.....119

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ПСК	Плюрипотентные стромальные клетки
БТФС	Богатый тромбоцитами фибриновый сгусток
АПСККП	Аутологичные плюрипотентные стромальные клетки костномозгового происхождения
ДНК	Дезоксирибонуклеиновая кислота
GFP	Зеленый флюоресцентный белок (Green fluorescent protein)

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы

В современную эпоху постоянно возрастает количество пациентов, обращающихся за помощью в связи с травмами тканей челюстно-лицевого региона. Состояние репаративной регенерации костных тканей данной категории больных служит основой для их полного выздоровления пациента. Необходимо обеспечение соответствующих условий для восстановления поврежденных органов и тканей.

Регенерация тканей – это ответ на травму, после которой сразу начинаются процессы заживления. Нарушение целостности кровеносных сосудов приводит к контакту тромбоцитов с коллагеном и активирует кровяные пластинки. Фибрин образуется фибриногена после активации тромбина, таким образом начинается репаративный процесс. Введенные извне дериваты фибрина участвуют в ликвидации последствий повреждения тканей и помогают заживлению (Mankad P.S., Codispoti M., 2001; Jackson M.R., 2001; Laidmae I. et al., 2006; Valbonesi M., 2006).

При заживлении тканей фибрин уменьшает потерю крови и помогает миграции и пролиферации эндотелиоцитов и других клеточных элементов (Kaijzel E.L. et al., 2006). Миграция молодых клеток соединительной ткани к поврежденным тканям определяется именно концентрацией фибрина и содержанием в нем различных цитокинов (McDougall S. et al., 2006).

Сначала фибриновый сгусток в стоматологии использовали с целью уменьшения кровопотери после удаления зубов, главным образом, на фоне нарушений в системе гемостаза, а также для заполнения больших закрытия костных дефектов (Federici A.B. et al., 2000; Halfpenny W. et al., 2001; O'Connell N. et al., 2002; Chuansumrit A., 2003; Carter G. et al., 2003а, 2003б; Spotnitz W.D., Prabhu R., 2005).

Далее препараты фибрина начали применять для склеивания тканей на хирургических операциях, вместо наложения швов, а также для улучшения

результатов дентальной имплантации (Spotnitz W.D., Prabhu R., 2005; Becker W., 2005; Choi B.H. et al., 2006; Choukroun J. et al., 2006a; Колесников И.С., 2006; Майбородин И.В. и др., 2007а, 2008б, 2009б).

После использования обогащенной тромбоцитами плазмы происходит более быстрое заживление экспериментальных дефектов костных тканей (Anitua E., 2001, 2006; Sanchez M. et al., 2003; Anitua E. et al., 2005, 2006б; Hokugo A. et al., 2005). Для улучшения результатов дентальной имплантации хорошие результаты дало использование фибриновго клея с тромбоцитами. При применении БТФС более умеренно повреждаются ткани, также фибрин прдохраняет ткани от проникновения микроорганизмов, и как следствие слабовыражен воспаление: диффузная инфильтрация лейкоцитами и застой лимфы. Также на фоне применения БТФС быстрее образуется соединительная ткань между инородным телом и живыми тканями, имплантат прочно фиксируется в месте его установки (Anitua E., 1999; Колесников И.С., 2006; Майбородин И.В. и др., 2007а, 2008б, 2009б; Lee H.J. et al., 2007; You T.M. et al., 2007а, 2007б).

Применение БТФС в клинике для заполнения дефектов костной ткани, являющихся следствием острого периодонтального абсцесса, способствует интенсификации репарации в десне и не нарушает заживление деструктивного очага (Шеплев Б.В. и др., 2008; Рагимова Т.М., 2009).

Обширные тканевые дефекты не способны к полной естественной регенерации, существует так называемый «критический размер» дефекта тканей. Однако, применение клеточных технологий дает возможность заживления обширных тканевых и костных дефектов без дополнительного хирургического вмешательства (Panetta N.J. et al., 2009; Dehne T. et al., 2009; Kastrinaki M.C., Papadaki H.A., 2009; David J.P. et al., 2009; Koelling S., Miosge N., 2009; Tamer el M.K., Reis R.L., 2009; Clines G.A., 2010; Chanda D. et al., 2010; Galle J. et al., 2010).

Плюрипотентные стромальные клетки (ПСК), имеющие потенциал к дифференцировке в костную, хрящевую и другие ткани, содержатся

практически во всех тканях организма, но больше всего их в красном костном мозге. В связи с этим перспективно использование ПСК для воздействия на процессы репарации костных дефектов (Chanda D. et al., 2010; Hong D. et al., 2010; Goldschlager T. et al., 2010; Peppo de G.M. et al., 2010; Goepfert C. et al., 2010).

Более целесообразна доставка ПСК в тканевой дефект на различных матрицах. Следует отметить, что 3-хмерные матрицы дают возможность клеткам взаимодействовать друг с другом (Tasso R. et al., 2010; Granchi D. et al., 2010; Burastero G. et al., 2010; Zippel N. et al., 2010).

Безклеточный костный матрикс или деминерализованная кость с адсорбированными АПСККП были введены в дефект височной кости черепа крыс. Использование ПСК способствовало ускорению образования сосудов и формирования кости в костном дефекте, вследствие применения клеточных технологий удалось полное заживление обширных повреждений костных тканей. Также введение ПСК явилось причиной уменьшения выраженности воспалительного процесса (Кругляков П.В. и др., 2005).

Кроме того использование ПСК привело к быстрому заживлению дефекта костей черепа минипигов, что было подтверждено 3-хмерной томографией с применением компьютера. Устойчивость новой кости к нагрузке достоверно не отличалась от уровня контрольных животных (Chang S.C. et al., 2003).

С целью воздействия на процессы заживления дефекта костей нижних челюстей собак использовали ПСК на подложке из гидроксиапатита. Методами световой микроскопии было доказано образование новой кости на подложках как с собственными, так и с донорскими плюрипотентными клетками. На подложках без клеток было отмечено менее значительное образование молодой костной ткани (Kok de I.J. et al., 2003, 2005).

ПСК, выделенные из альвеолярной кости человека, адсорбировали на 3-хмерных подложках из коллагена I типа и применяли у иммунодефицитных мышей для лечения тканевых дефектов скуловых костей. По данным денситометрия была показана максимальная плотность тканей после

использования коллагена с адсорбированными ПСК из-за формирования костного матрикса. Группами сравнения выступал животные с введением чистого коллагена или коллагена с адсорбированными гингивальными фибробластами. Образование костной ткани найдено через 4 недели, причем у всех контрольных мышей этого не произошло (Xiao Y. et al., 2003).

Процессы заживления экспериментальных костных дефектов были исследованы на 12 кроликах после использования применением аллогенных или аутологичных стромальных клеток, выделенных из жировой ткани. В дефект кости нижней челюсти вводили остеопластический материал «Гапкол» с адсорбированными ПСК. Для оценки результатов применяли цифровую микрофокусную рентгенографию, световую и сканирующую электронную микроскопию (Воложин А.И. и др., 2010).

На основании вышеизложенного можно заключить, что научная литература содержит данные о высокой результативности применения только фибриновых технологий и только ПСК для ускорения регенерации костных дефектов. Однако, вместе с многочисленными рекомендациями о применении ПСК на различных биодеградируемых подложках, в литературе явно недостаточно отражены результаты использования препаратов фибрина в качестве таких матриц для стромальных клеток.

Цель исследования

Изучить изменения структуры кости нижней челюсти крыс в процессе применения БТФС с адсорбированными АПСККП для ускорения регенерации.

Задачи исследования

1. При использовании световой микроскопии и рентгеновской денситометрии исследовать строение поврежденной кости нижней челюсти в различные сроки при заживлении без воздействия на репарацию.
2. Изучить регенерацию поврежденной кости нижней челюсти на фоне использования БТФС.

3. Оценить восстановление строения кости нижней челюсти после введения АПСККП.

4. Определить особенности заживления кости нижней челюсти в условиях применения БТФС с адсорбированными АПСККП.

Научная новизна

Впервые проведено сравнение процессов регенерации поврежденной кости нижней челюсти крыс после использования БТФС, введения АПСККП и применения БТФС с адсорбированными АПСККП.

Впервые показано, что через 1 неделю дефект костной ткани нижней челюсти был до 3/4 диаметра заполнен сформированной костной тканью, так как образование кости в этих случаях начинается с середины дефекта, а не только с краев. По результатам денситометрии у животных этой группы отмечена максимальная плотность кости в участке повреждения к окончанию времени наблюдения.

Теоретическое и практическое значение работы

Получены новые теоретические знания об особенностях заживления кости нижней челюсти после применения БТФС, АПСККП и БТФС с адсорбированными АПСККП. Важное значение для практической работы имеет более интенсивное течение репарационных процессов при использовании БТФС с АПСККП. Через 1 неделю отверстие в кости нижней челюсти было на большом протяжении, до 3/4 диаметра, заполнено сформированной костной тканью. По результатам денситометрии у животных этой группы была отмечена максимальная плотность кости в участке повреждения к окончанию времени наблюдения. Также после применения БТФС с АПСККП наиболее быстро возвращаются к исходному уровню численная плотность клеточных элементов, относительная и абсолютная площадь сосудов на срезе поврежденной кости нижней челюсти. Полученные данные указывают о перспективности использования БТФС с АПСККП для ускорения регенерации

костной ткани.

На защиту выносятся следующие основные положения

1. После применения БТФС регенерационные процессы начинаются интенсивнее: отверстие в кости нижней челюсти раньше и быстрее заполняется островками костной ткани.

2. Заполнение дефекта кости АПСККП способствует более быстрому появлению красного костного мозга.

3. При использовании БТФС с адсорбированными АПСККП уже через 1 неделю отверстие в кости нижней челюсти на большой площади заполнено сформированной костной тканью. Результаты денситометрии демонстрируют максимальную плотность кости в участке повреждения к 5-й неделе.

Апробация материалов диссертации

Основные материалы, положения и выводы диссертации доложены на 4 и 7 межрегиональных конференциях, посвященных памяти акад. РАМН проф. Л.В. Полуэктова (Омск, 2010, 2013), ежегодной научной конференции «Фундаментальные науки – медицине» (Новосибирск, 2010) и на заседании научного персонала лабораторий стволовой клетки, восстановительной медицины и персонализованной медицины Института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН (Новосибирск, 2013).

Внедрение результатов исследования в практику

Полученные результаты внедрены в научно-исследовательскую работу Центра новых медицинских технологий Института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН.

Публикации

По теме и материалам диссертации опубликованы 9 печатных работ, в том числе 5 статей в научных журналах и изданиях, которые включены в

перечень российских рецензируемых научных журналов для публикаций материалов диссертации.

Структура и объем диссертации

Диссертация состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, собственных результатов, обсуждения полученных результатов, выводов, практических рекомендаций, списка литературы и приложений. Работа изложена на 147 страницах компьютерного текста, содержит 11 таблиц, иллюстрирована 31 многокомпонентным комбинированным рисунком. Список литературы включает 310 источников (35 отечественных и 275 иностранных).

Автор выражает искреннюю благодарность научным руководителям д.м.н., профессору И.В. Майбородину и д.м.н., профессору П.А. Железному за научно-методическую помощь, ценные замечания и консультации в процессе выполнения исследований.

1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

Только в США каждый год происходит около 6,5 млн. травм, сопровождающихся костными переломами, регенерация примерно 15 % из них осложняется различными патологиями, которые в настоящее время невозможно эффективно корригировать (Gazit D. et al., 1999). Регенерация переломов является сложным быстроидущим процессом, в котором активно участвуют многие клетки и цитокины. Процессы восстановления костей окончательно не изучены и выступают объектом постоянных исследований в последние годы (Phillips A.M., 2005).

Костные дефекты часто возникают в качестве осложнениями переломов и других процессов. Несмотря на прогресс в лечении, полное заживление больших дефектов часто является невозможным, так как они не могут самостоятельно регенерировать. Клеточные технологии – это регенеративная медицина, которая все более развивается и дает надежду на эффективное лечение обширных повреждений (Panetta N.J. et al., 2009; Kastrinaki M.C., Papadaki H.A., 2009; Dehne T. et al., 2009; Tamer el M.K., Reis R.L., 2009; David J.P. et al., 2009; Koelling S., Miosge N., 2009; Clines G.A., 2010; Chanda D. et al., 2010; Galle J. et al., 2010).

1.1 Применение препаратов фибрина в лечении повреждений

Регенерация тканей – это ответ на травму, после которой сразу начинаются процессы заживления. Нарушение целостности кровеносных сосудов приводит к контакту тромбоцитов с коллагеном и активирует кровяные пластинки. Фибрин образуется фибриногена после активации тромбина, таким образом начинается репаративный процесс. Введенные извне дериваты фибрина участвуют в ликвидации последствий повреждения тканей и помогают заживлению (Mankad P.S., Codispoti M., 2001; Jackson M.R., 2001; Laidmae I. et al., 2006; Valbonesi M., 2006).

Фибрин и продукты его деградации активирует митотическую активность фибробластов, выработку ими компонентов соединительной ткани и прорастание сосудов (Dvorak H.F. et al., 1986; Freitas I. et al., 1991; Haroon Z.A. et al., 1999). Во время регенерации тканей к фибрину присоединяются цитокины, регулирующие формирование новых сосудов. Также фибрин совместно с иммуноглобулинами вызывает миграцию лейкоцитов, лизис и удаление детрита (Lindskog S., Lilja E., 1983; Chung S.I. et al., 1997).

Во время заживления фибрин уменьшает потерю крови и служит направляющей матрицей для роста сосудов (Kaijzel E.L. et al., 2006). Дериваты распада фибрина активируют миграцию остеобластов и клеток соединительной ткани и, соответственно, ускоренную репарацию дефектов костей в экспериментальной практике. Препараты фибрина стимулируют рост и функционирование фибробластов. Можно заключить, что препараты на основе фибрина активируют регенерацию повреждений костей (Yaman Z., 1998; Fabris G. et al., 1998; Ren W.H. et al., 1999, 2000a, 2000б; Soffer E. et al., 2003).

Эффективность заживления ран напрямую зависит от состояния фибрина (Vinckier F., Vermylen J., 1984). Целесообразно управлять процессом перехода фибриногена в фибрин для образования своеобразной сети, похожей на фибриновый сгусток, сформированный в природных условиях (Kaijzel E.L. et al., 2006; Dohan D.M. et al., 2006a, 2006б; Laurens N. et al., 2006).

Сначала фибриновый сгусток в стоматологии использовали с целью уменьшения кровопотери после удаления зубов, главным образом, на фоне нарушений в системе гемостаза, а также для заполнения больших закрытия костных дефектов. Применение фибринового сгустка позволяет даже управлять потерей крови. (Colm S.J., 1996; Federici A.B. et al., 2000; Halfpenny W. et al., 2001; O'Connell N. et al., 2002; Chuansumrit A., 2003; Carter G. et al., 2003a, 2003б; Spotnitz W.D., Prabhu R., 2005).

Далее препараты фибрина начали применять для склеивания тканей на хирургических операциях, вместо наложения швов, а также для улучшения результатов дентальной имплантации (Gregory E.W., Schaberg S.J., 1986;

Spotnitz W.D., Prabhu R., 2005; Becker W., 2005; Choi B.H. et al., 2006; Choukroun J. et al., 2006a; Колесников И.С., 2006; Майбородин И.В. и др., 2007а, 2008б, 2009б).

Применение фибрина в стоматологии приводит к активации образования соединительной ткани (Re S. et al., 2002; Soffer E. et al., 2003; Becker W., 2005; Колесников И.С., 2006; Майбородин И.В. и др., 2007а, 2008б, 2009б; Рагимова Т.М., 2009; Maiborodin I. et al., 2010; Ковынцев Д.Н., 2010).

Высокая активность результатов лечения была достигнута при внесении в полости костных дефектов фибринового сгустка с антибактериальными препаратами. Такие методы терапии дают возможность регенерации даже глубоких периодонтальных кист (Kovacs B., Kerenyi G., 1976; Schuh E. et al., 1978).

После использования обогащенной тромбоцитами плазмы происходит более быстрое заживление экспериментальных дефектов костных тканей (Anitua E., 2001, 2006; Sanchez M. et al., 2003; Anitua E. et al., 2005, 2006б; Hokugo A. et al., 2005). Для улучшения результатов дентальной имплантации хорошие результаты дало использование фибриновго клея с тромбоцитами. При применении БТФС более умеренно повреждаются ткани, также фибрин прдохраняет ткани от проникновения микроорганизмов, и как следствие слабовыражен воспаление: диффузная инфильтрация лейкоцитами и застой лимфы. Также на фоне применения БТФС быстрее образуется соединительная ткань между инородным телом и живыми тканями, имплантат прочно фиксируется в месте его установки (Anitua E., 1999; Колесников И.С., 2006; Майбородин И.В. и др., 2007а, 2008б, 2009б; Lee H.J. et al., 2007; You T.M. et al., 2007а, 2007б).

Применение БТФС в клинике для заполнения дефектов костной ткани, являющихся следствием острого периодонтального абсцесса, способствует интенсификации репарации в десне и не нарушает заживление деструктивного очага (Шеплев Б.В. и др., 2008; Рагимова Т.М., 2009).

Пленочные препараты, созданные на основе фибрина, являются

перспективным методом контроля кровопотери в хирургии и стоматологии. В состав таких пленок обязательно входят фибриноген и тромбин. Пленочные препараты компенсируют некоторые этапы образования фибрина в естественных условиях (Mankad P.S., Codispoti M., 2001; Jackson M.R., 2001; Laidmae I. et al., 2006).

БТФС ограничивает диссеминацию воспалительного процесса. Образование de novo кровеносных и лимфатических сосудов, устойчивость контакта эпителиоцитов с соединительнотканной подложкой, прочность ее межуточного вещества к энзиматическому повреждению возможно активировать использованием фибрина (Voiculescu D. et al., 1968; Pop M. et al., 1969; Romanos G.E., Strub J.R., 1998; Колесников И.С., 2006; Майбородин И.В. и др., 2007а, 2008б, 2009б).

Происходит уменьшение количества воспалительных осложнений хирургических операций, убыстрения репаративных процессов и восстановления сосудистой сети в результате использования БТФС вследствие высокого содержания в нем различных цитокинов, таких как IL-1-beta, IL-6, TNF-alpha, IL-4 и VEGF (Dohan D.M. et al., 2006в; Choukroun J. et al., 2006б).

Следует отметить, что применение препаратов, препятствующих коагуляции крови, супрессирует образование соединительной ткани посредством ингибиции перехода фибриногена в фибрин (Vinckier F., Vermylen J., 1984; Wikesjo U.M. et al., 1991).

FGF-2 является одним из главных релизов, управляющих регенерацией тканей. Наиболее хорошие результаты в приживлении собственных реимплантированных зубов в экспериментах на приматах были получены при добавлении FGF-2 в фибрин (Sae-Lim V. et al., 2004).

Перспективно использование препаратов, приготовленных из собственных плазмы и фибрина. Эти препараты включают в себя намного больше различных цитокинов, чем аптечные растворы плазмы (Komatsu F., Yoshida S., 1999, 2001).

Эффективность регенерации, показатели состояния молодой кости в

участках ее повреждения значительно лучше при включении в терапию тромбоцитарных факторов, таких как гели с тромбоцитами (Whitman D.H. et al., 1997; Anitua E., 2001, 2006; Sonnleitner D. et al., 2000; Kim E.S. et al., 2001; Sanchez M. et al., 2003; Soffer E. et al., 2003; Kawase T. et al., 2003, 2005a, 2005б; Sanchez A.R. et al., 2003; Anitua E. et al., 2004, 2005, 2006a, 2006б).

Можно сказать, что БТФС является аналогом фибринового клея, сделанного ex tempore из собственной крови. БТФС используют для убыстрения репаративных процессов при приживлении имплантов в клинике. БТФС включает в себя множество клеточных релизов. Эти клеточные сигналы активируют вызывают миграцию, пролиферацию и дифференцировку клеток мезенхимального (в том числе, клеток кости, хряща и стромальные клеточные элементы) и эпителиальных происхождения, ускоряют образование межуточного вещества соединительной ткани (Anitua E., 1999, 2001, 2006; Sanchez A.R. et al., 2003; Anitua E. et al., 2004, 2005, 2006a, 2006б, 2007; Yamazaki S. et al., 2005; Hokugo A. et al., 2005; Schmidt M.B. et al., 2006; Sanchez M. et al., 2007; Schwartz-Arad D. et al., 2007). Следует отметить, что действие БТФС более выражено, чем простое сочетание всех известных веществ, возможно, за счет присутствия в фибрине еще неизвестных факторов и потенцирования действия некоторых из них (Kawase T. et al., 2005a, 2005б).

Необходимо указать, что вместе с результатами, свидетельствующими об высокой результативности использования фибриновых препаратов, в научной литературе приводятся сведения о низкой результативности указанных способов терапии в клинике (London R.M. et al., 2002; Fuerst G. et al., 2004).

U.Ripamonti и J.C.Petit (1989) в экспериментальных работах на приматах по исследованию препараты, содержащего фибрин, не отметили положительного результата в отношении профилактики анкилозирования и корневой резорбции при повторной имплантации собственных зубов, также не было найдено убыстрения восстановления соединительнотканных комплексов.

P.Cortellini и др. (1995), L.Trombelli и др. (1995a, 1995б, 1996a, 1996б) приводят данные об отсутствии результатов использования препаратов

фибрина на матрице из тефлона в отношении воздействия на продолжительность репаративного процесса. Следует отметить, что эти же исследователи за несколько лет до этого сообщали о высокой результативности препаратов фибрин-фибронектина в терапии повреждений слизистой оболочки полости рта (Cortellini P. et al., 1991; Trombelli L. et al., 1994).

V.Lekovic и др. (2001) не отметили результатов, указывающих на ускорение регенерации поражений периодонта у больных при включении в схему лечения фибриноген-фибронектинового комплекса.

Не нашли статистически достоверных отличий по кровопотере, гнойных осложнений и скорости регенерации тканей, когда больным после удаления зуба в альвеолярный дефект вводили БТФС с антибиотиком или без него (Moller J.F., Petersen J.K., 1988; Froum S.J. et al., 2002).

При трансплантации тканевых комплексов в экспериментальных работах на собаках применяли препараты фибрина. На уровне светооптического исследования было продемонстрировано, что показатели формирования соединительной ткани и регенерации кости не различается с контрольными. Вместе с этим, авторы отмечают положительную, но недостоверную динамику (Warrer K., Karring T., 1992). Такую же низкую результативность использования препаратов фибрина в отдаленные сроки после удаления зуба отмечали у грызунов (Padovan L.E. et al., 2005).

При исследовании репаративных процессов в нижнечелюстной кости у кроликов после применения гранулированного гидроксиапатита в смеси с фибрином не было обнаружено отличий от группы контроля после применения только гидроксиаппатита. Трансплантированный в кость материал не оказывал влияния на образование или лизис самой кости (Oberg S., Kahnberg K.E., 1993; Meijer H.J. et al., 1997; Carmagnola D. et al., 2000).

В литературе описана гранулематозная воспалительная реакция при поглощении БТФС в тканях макрофагами. Сделано заключение об удалении фибрина из тканей через фагоцитоз макрофагами и нейтрофилами (Колесников И.С., 2006; Майбородин И.В. и др., 2007а, 2009б).

Следует обратить внимание на возможность аллергии на фибриновые препараты. После установки имплантов с использованием БТФС в десне отдельных больных было обнаружено большое число эозинофильных лейкоцитов и тучных клеток (Ockenfels H.M. et al., 1995; Колесников И.С., 2006; Рагимова Т.М., 2009).

1.2 Репарация костной ткани в условиях использования плюрипотентных стромальных клеток

1.2.1 Характеристика плюрипотентных стромальных клеток и их источники

ПСК, имеющие потенциал к дифференцировке в костную, хрящевую и другие ткани, содержатся практически во всех тканях организма, но больше всего их в красном костном мозге. В связи с этим перспективно использование ПСК для воздействия на процессы репарации костных дефектов (Chanda D. et al., 2010; Hong D. et al., 2010; Goldschlager T. et al., 2010; Peppo de G.M. et al., 2010; Goepfert C. et al., 2010).

ПСК из разных тканей обладают сходным эффектов в отношении формирования кости: найденные в жировой ткани, крови пупочного канатика, его межклеточного матрикса, волосяных фолликулов, периферической крови, надкостницы, различных структур связочного аппарата, причем количество их возрастает на ранних стадиях остеоартрита, субхондральной кости, костей свода черепа, нервной ткани, слизистой оболочки полости рта, эмбриональные стволовые клетки, в том числе – амниотические, стромальные клетки зубных зачатков (Wakitani S., Yamamoto T., 2002; Wan C. et al., 2006; Hayashi O. et al., 2008; Zhang X. et al., 2008; Neumann K. et al., 2008; Wu G. et al., 2009; Cheng M.T. et al., 2009; Chung I.H. et al., 2009; Pei M. et al., 2009; Fan J. et al., 2009; Steenhuis P. et al., 2009; Shi X. et al., 2009; Arpornmaeklong P. et al., 2009; Wei J.P. et al., 2009; Sun H. et al., 2010; Ji Y.H. et al., 2010; Hu J. et al., 2010; Yamada Y. et

al., 2010; An C. et al., 2010; Niemeyer P. et al., 2010a; Peterbauer-Scherb A. et al., 2010; Shoji T. et al., 2010; Wang Y. et al., 2010; Lee S.J. et al., 2010; Tomar G.B. et al., 2010; Kang J.M. et al., 2010; Schneider R.K. et al., 2010; Liu G. et al., 2010; Hsieh J.Y. et al., 2010; Zhao L. et al., 2010a, 2010б; Xu H.H. et al., 2010).

Возможно, что ПСК, выделенные из костного мозга и надкостницы, в отношении формирования кости лучше стромальных клеток жировой ткани (Hayashi O. et al., 2008; Niemeyer P. et al., 2010a) и периферической крови. Это основано на том, что среди ПСК из костного мозга находится больше CD105+, CD34+ и CD14+ клеток (Smiler D. et al., 2008).

ПСК, в зависимости от методов выделения и выращивания, имеют различную структуру. В связи с этим перед использованием клеточных технологий целесообразно тестирование на направление созревания до нужной ткани (Tallheden T. et al., 2003).

Чаще всего ПСК описывают как крупные, веренообразно вытянутые клеточные элементы. В культуре только они могут созревать в направлении хрящевой, костной и жировой ткани (Singh S. et al., 2008; Coipeau P. et al., 2009; Martins A.A. et al., 2009; Berner A. et al., 2010).

1.2.2 Некоторые особенности применения плюрипотентных стромальных клеток

В последнее время появились работы, противопоставляющие применение ПСК для регенеративной медицины и для тканевой инженерии, которая не просто восстанавливает ту или иную ткань, но также позволяет воссоздать 3-хмерную структуру утраченных или поврежденных тканей (нескольких, например, суставной хрящ и субхондральная кость) или даже органов (Caplan A.I., 2007; Weinand C. et al., 2009).

Матрица или подложка для тканевой инженерии, роста клеток и введения их в организм – это критическая детерминанта для клинического усиления регенерации и репарации тканей организма. Для восстановления костной ткани

требуются материалы биосовместимые, хорошо васкуляризованые, механически сопоставимые с костью, интегрируемые в скелет реципиента и поддерживающие остеоиндукцию имплантируемых ПСК (Harris C.T., Cooper L.F., 2004; Mansilla E. et al., 2007).

Введение ПСК в организм многие исследователи осуществляют на различных носителях, лучше 3-хмерных, в которых клетки лучше взаимодействуют между собой и могут обмениваться клеточными сигналами (Granchi D. et al., 2010; Tasso R. et al., 2010; Zippel N. et al., 2010; Burastero G. et al., 2010).

Матрицы для доставки ПСК в костные ткани должны (Gentleman E. et al., 2009; Zippel N. et al., 2010; Park S.H. et al., 2010; Salerno A. et al., 2010):

1. Быть биосовместимыми.

2. Стимулировать рост кости.

3. Иметь обширную взаимосвязанную пористую структуру, сходную со структурой замещаемой костной ткани.

4. Быть механически прочными.

5. Быть биодеградируемыми.

В качестве таких матриц предлагают использование ПСК в: пористом контейнере биокерамики, например, из фосфорноксилого кальция, который является промотором для остеогенной дифференцировки ПСК (Nandakumar A. et al., 2010; Zhang Z.Y. et al., 2010; Seebach C. et al., 2010а, 2010б; Yang L. et al., 2010; Xu H.H. et al., 2010), гидроксиапатита или коралла (Fu K. et al., 2010; Kang J.M. et al., 2010; Lee J.S. et al., 2010; Ho S.T. et al., 2010; Liu M. et al., 2010; Seebach C. et al., 2010б), сочетания гидроксиапатита с фосфатом кальция (Nair M.B. et al., 2009а, 2009б, 2009в; Song J.S. et al., 2009; Patlolla A. et al., 2010) или хитином (Ge Z. et al., 2004; Li X. et al., 2006), композита коралла и хитозана (Gravel M. et al., 2006), сочетания фосфата кальция и хитозана (Zhao L. et al., 2010a; Champa Jayasuriya A. et al., 2010; Weir M.D., Xu H.H., 2010; Stephan S.J. et al., 2010), только хитозана (Malafaya b P.P. et al., 2005; Martins A.M. et al., 2009), сочетания гидроксиапатита с коллагеном (Sun W. et al., 2005; Chang S.H. et al., 2010), в контейнере из углеродных волокон (Robinson D. et al., 1993), из

коллагена, по некоторым данным, культивирование ПСК с коллагеном способствует их дифференцировки в остеогенном направлении (Fernandes H. et al., 2010; Schneider R.K. et al., 2010; Tsai K.S. et al., 2010; Liu M. et al., 2010).

Возможно использование в качестве матрицы для ПСК ауто- и ксенологичных костных и хрящевых тканей, ацеллюлярного или деминерализованного костного матрикса (Sauerbier S. et al., 2010; Liu G. et al., 2010; Breitbart E.A. et al., 2010; Bal B.S. et al., 2010; Stiehler M. et al., 2010).

Применение на крысах грызунах ПСК и деминерализованной кости привело в случае поврежденного суставного хряща к формированию сложной остеохондральной структуры, включающей суставной хрящ и подхрящевую кость; после имплантации в полость кости конечности – к образованию костных перегородок и гемопоэтических структур; при терапии дефекта плоской кости – росту ее, соответственно (Gurevitch O. et al., 2003).

Высокая эффективность в плане убыстрения восстановления кости и остеоинтеграции имплантатов была достигнута после совместном применении фибриновых и клеточных технологий. Такая плазма сама поддерживает рост костной ткани и также служит матрицей для роста кости из ПСК (Ito K. et al., 2006; Pieri F. et al., 2009; Nair M.B. et al., 2009б; Yoshimi R. et al., 2009; Niemeyer P. et al., 2010a; Yamada Y. et al., 2010). Также используют лизат тромбоцитов, полученный в результате центрифугирования кровяных пластинок ($1,5x10^9$/мл) на высокой скорости (Lange C. et al., 2007; Chevallier N. et al., 2010; Holzwarth C. et al., 2010). ПСК с плазмой или тромбоцитами возможно доставлять в участки регенерируемых костных и хрящевых тканей инъекционным путем (Yoshimi R. et al., 2009).

Скорость деградации матрицы прямо влияет на метаболизм ПСК и, соответственно, скорость остеогенеза (Park S.H. et al., 2010).

1.2.3 Регенерация костной ткани при использовании только плюрипотентных стромальных клеток без подложек

Безклеточный костный матрикс или деминерализованная кость с

адсорбированными АПСККП были введены в дефект височной кости черепа крыс. Использование ПСК способствовало ускорению образования сосудов и формирования кости в костном дефекте, вследствие применения клеточных технологий удалось полное заживление обширных повреждений костных тканей. Также введение ПСК явилось причиной уменьшения выраженности воспалительного процесса (Кругляков П.В. и др., 2005).

Кроме того использование ПСК привело к быстрому заживлению дефекта костей черепа минипигов, что было подтверждено 3-мерной томографией с применением компьютера. Устойчивость новой кости к нагрузке достоверно не отличалась от уровня контрольных животных (Chang S.C. et al., 2003).

Восстановление кости после имплантации человеческих ПСК или хондробластов было исследовано на крысах с двусторонними переломами бедер. Не отмечено симптомов иммуноконфликтов и воспаления. Было показано ускорение восстановления поврежденных тканей между 10 и 30 днями. ПСК эффективно активирует образование кости, что, в основном, связано с более быстрой дифференцировкой остеонов. Помимо этого, было продемонстрировано, что новая ткань сливается с соседними участками и таким образом восстанваливается (Фатхудинов Т.Х. и др., 2005).

Через 64 суток после использования клеточных технологий для воздействия на травмы лучевой кости (мышь), прочностные показатели молодой костной ткани не отличалась от контроля. Костные регенераты имели небольшой размер в сочетании с возросшей твердостью (Kallai I. et al., 2010).

1.2.4 Адсорбция плюрипотентных стромальных клеток на матрицах с целью восстановления костей

После моделирования больших дефектов черепа у кроликов, полости были заполнены ПСК на пористом носителе из фосфорнокислого кальция. Гистологическое исследование спустя 42 дня продемонстрировало распад носителя, и образование новой кости с хорошо развитым межклеточным

веществом, в оставшихся ПСК нашли признаки синтеза коллагена I типа. Через 84 суток керамический контейнер был полностью лизирован, молодая кость выполняла всю полость. После имплантации только фосфорнокислого кальция, также как и в контроле без коррекции, произошло слабое разрастание кости на краю дефекта, но в его центральной части структур кости не нашли (Bo B. et al., 2003). Подобные эффекты были достигнуты в результаты имплантации ПСК на носителях из кораллового апатита или коллагена (Hou R. et al., 2005).

Подложки кубической формы (2x2x2 мм) с человеческими ПСК вводили подкожно на спину мышам. Гистологическое исследование с морфометрией через 5 недель продемонстрировало отсутствие кости в кубе из кораллового апатита и из бычьей кости. Признаки образования кости присутствовали в кубах из гидроксиапатита и фосфорнокислого кальция. Материал носителя деградировал в очень небольшой степени к ук4акзанному сроку (Harris C.T., Cooper L.F., 2004).

Кроличьи ПСК стимулировали к созреванию в остостеобластном направлении посредством дексаметазона, затем клетки адсорбировали на гидроксиапатите и хитине. Такие подложки вводили участок повреждения кости бедра. Спустя 8 недель на уровне световой микроскопии было показано восстановление костной ткани и распад носителя. ПСК, трансфицированные ДНК, кодирующей белок GFP, были расположены в порах контейнера. Кроме того, специфическое свечение обнаружили в остеобластах, в том числе и в соседних участках кости вследствие взаимопрорастания структур реципиентной и донорской кости (Ge Z. et al., 2004).

В средине диафиза кости бедра собаки моделировали повреждение протяженностью до 2 см и имплантировали гетерогенные ПСК на контейнере из биокерамики (гидроксиапатит и фосфорнокислый кальций). Не нашли ответа системы иммунитета на гетерогенные ПСК (аккумуляция лимфоцитов и продукция иммуноглобулинов). Спустя 56 дней произошло образование костной мозоли на протяжении всего участка повреждения, остеоны присутствовали в порах биокерамики и в пограничных с костью участках.

Гетерогенные ПСК обнаруживали по прижизненной метке флюоресцентным красителем. Через 112 суток молодая кость присутствовала по длине всего имплантата, статистически достоверно найден более значительный рост молодой кости после внедрения ПСК, относительно имплантации чистой биокерамики. Сделано заключение, что возможна имплантация гетерогенных ПСК без подавления функционирования иммунной системы (Arinzeh T.L. et al., 2003).

В результате применения гидроксиапатита и коллагенового геля с ПСК с целью воздействия на участок повреждения кости бедра у кроликов обнаружили образование молодой кости с медленным разложением носителя. При имплантации подложки с ПСК кость появляется раньше и является более плотной (0,99 ± 0,11 в контроле против 1,29 ± 0,14 в опыте с ПСК), одновремнно развиваются сосудистая сеть и остеоны. Спустя полгода в дефекте были расположены костномозговые структуры (Chang S.H. et al., 2010).

Исследовали экспериментальные результаты использования фасциального лоскута с аутологичными ПСК с целью ускорения восстановления кости пациентов. Отмечено образование более минерализованной кости при добавлении некоторых цитокинов. Микроскопические изменения регистрировали уже через 1 неделю, спустя 14 дней шло интенсивное образование депозитов с сосудами и без. К 42 суткам было отмечено присутствие окрашенных основными красителями минеральных кристаллов вокруг остеобластов и остеокластов. К указанному сроку в остеобластах присутствовали гистохимические признаки кости. Векторными методами продемонстрировано созревание введенных ПСК в клетки костной ткани к 28 суткам (Fukui M. et al., 2005).

Использование человеческих ПСК, выделенных из пуповины, на подложке из поликапролактона и фосфорнокислого кальция с целью коррекции поврежденной кости бедра протяженностью 7 мм у крыс продемонстрировали 2-хкратное убыстрение образования молодой кости (43,3 ± 10,5 мм^3 в опыте, 21 ± 7,4 мм^3 в контроле), и возрастание ее плотности (с 3,9 ± 1,7 мНм/град до 0,4 ±

0,3 мНм/град). Гетерогенные ПСК можно было обнаружить в течение 28 суток, но затем осталась очень богатая васкуляризация (35,2 ± 11,1 мм^3 в опыте, 6,5 ± 3,6 мм^3 в контроле) в месте повреждения. Следует отметить, что только в группе с имплантацией ПСК произошло сращение костных фрагментов (Zhang Z.Y. et al., 2010).

Показана четкая этапность регенерации тканей большеберцовой кости овец после введения ПСК в контейнере из биокерамики (Cancedda R. et al., 2003):

1. Образование молодой кости снаружи биокерамики.
2. Образование молодой кости внутри контейнера.
3. Образование дефектов в имплантированной биокреамике.
4. Образование молодой кости в порах контейнера.

Дефект черепа до полусантиметра в диаметре крыс-самцов с иммунодефицитом заполняли человеческими ПСК, в качестве матрицы выступала желатиновая губка. Согласно результатам рентгеновских методов исследования спустя 56 дней появились характерные для кости первые симптомы минерализации. Микросокопически полость была заполнена дифференцированными клетками остеоидного ряда, это было подтверждено данными иммуногистохимии (Akita S. et al., 2004).

Имплантация ПСК с материалом «PuraMatrix» в смеси с плазмой, обогащенной тромбоцитами, приводит к значительному убыстрению образования молодой костной ткани, это было подтверждено гистоморфометрически спустя 56 суток у собак в регионе повреждения нижнечелюстной кости (Yoshimi R. et al., 2009).

Выделенные у овец АПСККП, совместно с фибрином применяли при экспериментальной имплантации нанесли на поверхность хирургических имплантов и использовали в эксперименте на овцах. Радиовизиографически и микроскопически продемонстрировано, что разрастания кости после применения клеточных технологий значительной шире, но не было обнаружено достоверных отличий от контрольных значений при изучении площади

контакта кости с инородным телом (Kalia P. et al., 2006).

В литературе описана эффективность использования тромбоцитарной плазмы совместно с ПСК для воздействия на процессы репарации костной ткани (Kitoh H. et al., 2004; Hibi H. et al., 2006; Qi M. et al., 2006; Hu J. et al., 2007; Kinoshita K. et al., 2008). Такое действие связано с тем, что релизы мегакариоцитов и тромбоцитов оказывают воздействие на созревание ПСК. Также обнаружено, что взаимовлияние кровяных пластинок с ПСК стимулирует оссификацию (Sumiyoshi K. et al., 2010).

Пролиферирующие ПСК, совместно с матриксом, были смешаны в шприце с фибрином и фосфорнокислым кальцием. Далее полученная смесь вводилась под кожу спины крыс. Спустя 56 дней на уровне световой микроскопии продемонстрировано образование дериватов кости. Этого не произошло после внедрения только фибрина или фосфорноксилого кальция в контрольных группах (Yamada Y. et al., 2003).

1.2.5 Применение клеточных технологий в клинической и экспериментальной стоматологии

ПСК достаточно широко используются в клинической и экспериментальной (Jäger M. et al., 2009; Steenhuis P. et al., 2009; Liu Z.J. et al., 2009; Caplan A.I., 2009; Menabde G. et al., 2009; Nedel F. et al., 2009; Chung I.H. et al., 2009; Richter W., 2009; Charbord P., 2010; Yang Z.H. et al., 2010).

ПСК можно найти в тканях периодонта, эти клетки являются производными эктомезенхимы, похожи по внешнему виду на фибробласты и имеют стандартный для этой группы клеточных элементов набор CD-маркеров. Необходимо отметить, что ПСК из периодонта реагируют с антителами против коллагена I типа и сиалопротеина (Xu J. et al., 2009; Orciani M. et al., 2009; Huang G.T. et al., 2009; Shirai K. et al., 2009; Mrozik K.M. et al., 2010; Feng F. et al., 2010; Oortgiesen D.A. et al., 2010).

В литературе содержатся свидетельства существования ПСК в зубных

дентине и пульпе. Подобные клеточные элементы способны созревать как в остеобласты, так и в характерные клетки твердых тканей зубов (Laino G. et al., 2006; Mrozik K.M. et al., 2010; Alge D.L. et al., 2010; Yamada Y. et al., 2010; Yamaza T. et al., 2010; Morsczeck C., Schmalz G., 2010).

Экспериментальное применение (собаки) замороженных или свежих ПСК в участки периодонтальной патологии способствовало полному заживлению пораженных тканей: образованию цемента, структур кости и периодонтальной связки (Tan Z. et al., 2009; Li H. et al., 2009). Кроме того, после использования клеточных технологий более прочно держались дентальные имплантаты в эксперименте на козлах, по сравнению с результатами имплантирования без клеток (Marei M.K. et al., 2009).

Обогащенная тромбоцитами плазма в сочетании с ПСК на гидроксиапатитной матрице доставлялась в нижнечелюстные дефекты минипигов в эксперименте (спустя 9 недель после удаления зубов делали стандартные искусственные дефекты на данных участках), на мягкие ткани накладывали швы. Через 90 дней после старта терапии не было симптомов воспаления, а найдено образование молодой кости между некротизированными остатками костных опилок. Продемонстрировано более выраженное образование кости после применения клеточных технологий (45,3 % после ПСК, 38 % после плазмы, 36 % после гидроксиапатита) и площади контакта кости с поверхностью имплантатов (59 % после ПСК, 48,4 % после плазмы, и 46,4 % после гидроксиапатита) (Pieri F. et al., 2009).

В эксперименте удаляли зубы собакам, спустя 30 дней расширяли заживающие лунки до 1 см. ПСК из костей таза культивировались в течение 1 месяца. В процессе дентальной имплантации применяли фибрин; ПСК в сочетании с фибрином; ПСК в комбинации с фибрином и тромбоцитарной плазмой; в контроле делали только имплантацию). Оценивали поверхность контакта кости с имплантатом спустя 14, 28 и 56 дней после операции. У контрольных животных на указанные сроки величины значений данных показателей соответственно были равны 17 %, 19 % и 29 %, после применения

фибринового сгустка – 20 %, 22 % и 25 %, после ПСК, адсорбированных на фибриновом сгустке – 22 %, 32 % и 42 %, после ПСК с фибрином и плазмой - 25 %, 49 % и 53 % (Ito K. et al., 2006).

Костномозговые остеобласты (минипиги) размещали в 3-хмерный контейнер из эмалевых дериватов и проводили аутоимплантацию. Спустя 12-20 недель в месте операции присутствовали структуры зубов с дентином, эмалью, пульпой и тканями периодонтальной связки, все это было заключено в молодуй кость. У контрольных животных (без клеток) дентин в регенерате отсутствовал (Abukawa H. et al., 2009).

Имеются результаты исследований, указывающие на допустимость созревания ПСК, выделенных из жировой ткани, до одонтобластов. На основании этого в комплексе с данными о наличии дентальных ПСК появляется возможность использования стволовых клеток регенерации зубов даже у взрослых особей (Abukawa H. et al., 2009; Wu G. et al., 2009; Song J.S. et al., 2009; Nedel F. et al., 2009; Chung I.H. et al., 2009; Rimondini L., Mele S., 2009; Mantesso A., Sharpe P., 2009; Morsczeck C., Schmalz G., 2010).

ПСК в суспензии отдельно и вместе с тромбоцитарной плазмой был эффективно использован для коррекции стенки верхнечелюстной пазухи синуса. Это экспериментальные данные, полученные на кроликах и минипигах. В клинических условиях подобные мероприятия часто проводят во время подготовки к установке зубных имплантов (McAllister B.S. et al., 2008; Pieri F. et al., 2008; Sauerbier S. et al., 2010).

Подложку из гидроксиапатита и фосфорнокислого кальция заселяли ПСК и имплантировали для заживления участка повреждения альвеолярного отростка у собак. Морфометрическое исследование на уровне световой микроскопии продемонстрировало образование молодой кости на носителях с собственными и гетерогенными ПСК. Объем кости на подложках без клеток был не очень значительным. Свидетельств реагирования системы иммунитета не было даже после внедрения аллогенных ПСК. Необходимо отметить, что даже спустя 2 месяца введенные и меченные краской ПСК присутствовали в

структурах молодой кости. Симптомов воспаления и патологических очагов оссификации в мягких тканях не обнаружено (Kok de I.J. et al., 2003, 2005).

ПСК, выделенные из альвеолярных костей человека, наносили на 3-D контейнеры из коллагена I типа и имплантировали иммунодефицитным мышам в большие дефекты скуловых костей. Рентгеновская денситометрия доказала максимальную плотность тканей после применения ПСК из-за формирования специфического костного матрикса, чем после имплантации чистого коллагена или с адсорбированными гингивальными фибробластами. Образование костной ткани отмечено спустя 4 недели, чего не было найдено во всех контрольных группах. Исследование ДНК подтвердило, что в образовании молодой кости участвуют как имплантированные человеческие клетки, так и ПСК из собственного костного мозга (Xiao Y. et al., 2003).

Процессы заживления экспериментальных костных дефектов были исследованы на 12 кроликах после использования применением аллогенных или аутологичных стромальных клеток, выделенных из жировой ткани. В дефект кости нижней челюсти вводили остеопластический материал «Гапкол» с адсорбированными ПСК. Для оценки результатов применяли цифровую микрофокусную рентгенографию, световую и сканирующую электронную микроскопию (Воложин А.И. и др., 2010).

Аутологичные ПСК трансплантировались в дефект периодонта в эксперименте на собаках. Было обнаружено образование цемента, тканей периодонтальной связки и структур альвеолярной кости после имплантации ПСК в 2 % растворе коллагена I типа (от $2x10^6$ до $2x10^7$ клеток в 1 мл). Сделано заключение о перспективности клеточных технологий в лечении периодонтальной патологии (Kawaguchi H. et al., 2004). Аналогичные результаты были достигнуты при использовании ПСК в клинической практике. Все авторы сообщают об отсутствии осложнений и нежелательных эффектов (Kawaguchi H. et al., 2005; Feng F. et al., 2010).

Смесь ПСК с тромбоцитарной плазмой наносили на поверхность корня зуба в условиях клиники для терапии периодонтального дефекта.

Радиовизиографией продемонстрировано постепенное снижение размеров дефекта в кости. Авторы отмечают регенерацию межзубных десневых сосочков, что считается достаточно важным для эстетических результатов (Yamada Y. et al., 2006; Kawaguchi H., Kurihara H., 2008).

ПСК, выделенные из круговой мышцы глаза и имеющие характерные признаки стволовых клеток, оказались способными созреванию в остеоидном направлении. Из указанного источника ПСК более доступны, чем костномозговые, Эти клетки легче выделять и применять с целью ремоделирования альвеолярной кости и коррекции «волчьей пасти» в детском возрасте (Bueno D.F. et al., 2009). Следует отметить многочисленность литературных данных, посвященных использованию ПСК для лечения различных дефектов альвеолярных отростков и костей (Chai G. et al., 2006; Ou X.R. et al., 2007; Salvadè A. et al., 2007; Behnia H. et al., 2010).

РЕЗЮМЕ

Таким образом можно заключить, что в научной литературе содержится очень много данных о высокой результативности и, наоборот, об отсутствии эффекта после применения фибриновых и клеточных технологий для коррекции стоматологической патологии в клинике и эксперименте. Вместе с этим, несмотря на многочисленные рекомендации о применении АПСККП на различных биодеградируемых матрицах, в литературе явно недостаточно отражены результаты использования препаратов фибрина в качестве таких носителей для АПСККП.

2 МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 Группы животных и сроки забора материала

Исследование основана на данных сравнительного светооптического и денситометрического изучения процессов регенерации поврежденной кости нижней челюсти самцов крыс Wag (сертифицированная инбредная линия) в разное время сроки после заполнения искусственно созданного отверстия БТФС с адсорбированными АПСККП. Количество животных в группах (контроли и опыт) содержится в таблице 1.

Таблица 1 – Группы и количество животных

Регенерация	Интактные	Срок после операции					Всего
		1 неделя	2 недели	3 недели	4 недели	5 недель	
Без вмешательства	12	12	12	12	9	8	65
Применение БТФС	12	12	12	12	8	6	62
Введение АПСККП	12	12	12	12	12	10	70
Использования БТФС с АПСККП	12	12	12	12	12	10	70
Всего							**267**

Все животные были получены из вивария ГБУН Института цитологии и генетики СО РАН, соответствующего SPF. Крысы содержались при естественном освещении и свободном доступе к пище и воде, питание было стандартизовано. Эксперименты с крысами проводили на базе вивария ГБУН

Института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН.

Выбор для экспериментов крыс объясняется тем, что эти животные устойчивы к различным инфекциям. Большим преимуществом крыс является то, что они менее специализированы, всеядны и имеют высокий диапазон условий жизнедеятельности (Сахаров П.П. и др., 1952; Лейн-Петтер У., 1964; Западнюк И.П. и др., 1974).

Все работы с животными проводили под общей анестезией диэтиловым эфиром в условиях чистой операционной с соблюдением «Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных» (Приказ МЗ СССР № 755 от 12 августа 1977 г.; Приказ Министерства высшего и среднего специального образования СССР № 742 от 13 ноября 1984 г.). На работу получено разрешение Локального комитета по медицинской этике Центра новых медицинских технологий в Академгородке Института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН (протокол № 5 заседания Этического комитета от 04 февраля 2011 года).

2.2 Приготовление богатого тромбоцитами фибринового сгустка

Декапитировали несколько крыс указанной линии и в стерильные стеклянные пробирки собирали до 5 мл крови. Кровь подвергали центрифугированию на 2800 оборотах в 1 мин. продолжительностью 12 мин. (Колесников И.С., 2006; Майбородин И.В. и др., 2007а, 2008б, 2009б; Рагимова Т.М., 2009; Maiborodin I. et al., 2010; Ковынцев Д.Н., 2010). Затем из пробирок забирали верхнюю часть, фибриновый сгусток с тромбоцитами, который и являлся БТФС. Фибриновый сгусток в стерильных условиях хранили до нескольких часов при 37 °С непосредственно до применения. Перед помещением в дефект костной ткани от БТФС стерильным инструментом отрезали соответствующий по размерам фрагмент.

2.3 Выделение аутологичных плюрипотентных стромальных клеток

АПСККП выделяли, культивировали и определяли уровень дифференцировки в соответствии с многочисленными литературными рекомендациями (Singh S. et al., 2008; Coipeau P. et al., 2009; Martins A.A. et al., 2009; Berner A. et al., 2010; Shi X. et al., 2010; Hamidouche Z. et al., 2010; Wang Y. et al., 2010; Hu J. et al., 2010; Korecki C.L. et al., 2010; Ковынцев А.Н., 2011).

Следует отметить, что применение АПСККП, выделенных у одних особей крыс, для введения другим животным этой линии является допустимым и основано на многочисленных данных литературы. Имеются сообщения, что недифференцированные ПСК не имеют CD-маркеров иммуногенности, не активируют иммунных реакций после аллогенной и даже ксеногенной пересадки кроме того подавляется пролиферация аллогенных Т-лимфоцитов, подавляются воспалительные и иммунные реакции (Zhao Z.Y. et al., 2005; Poncelet A.J. et al., 2009; Caplan A.I., 2009; Undale A.H. et al., 2009; Niemeyer P. et al., 2010б, 2010в; Yamaza T. et al., 2010; Fu K. et al., 2010; Charbord P., 2010). ПСК, выделенные из эмбрионов, также не имеют иммуногенных свойств, но обладают иммуносупрессией (Heng B.C. et al., 2005a, 2005б; Poncelet A.J. et al., 2009).

Вместе с этим, имеются данные, что аллогенные недифференцированные ПСК все-таки являются слабым стимулятором иммунных реакций (Jäger M. et al., 2007a, 2007б ; Zhang X. et al., 2009; Chuang C.K. et al., 2010). В связи с этим для экспериментальных работ были использованы линейные инбредные крысы.

2.4 Моделирование дефекта нижней челюсти и применение фибринового сгустка, аутологичных плюрипотентных стромальных клеток и их сочетания

Была выбрана модель повреждения костной ткани, которая имеет минимальные индивидуальные различия, связанные с прохождением сосудов и

нервов, ткани в области участка повреждения практически не смещаемы в результате сокращения мышц при жевании. На основании того, что кость нижней челюсти легко доступна и имеет достаточную прочность, этот участок был выбран для экспериментального создания дефекта (Maiborodin I. et al., 2010; Ковынцев Д.Н., 2010; Воложин А.И. и др., 2010; Ковынцев А.Н., 2011).

Модель экспериментального дефекта костной ткани и использования БТФС, АПСККП и БТФС с адсобированными АПСККП (Maiborodin I. et al., 2010; Ковынцев Д.Н., 2010; Ковынцев А.Н., 2011) (Приложение А рис. 1, 2):

1. После дезинфекции спиртом кожу разрезали на протяжении длиной 1,5-2 см под нижней челюстью.

2. Тупо отслаивали жевательные мышцы и обнажали поверхность кости в области угла нижней челюсти.

3. При стандартных условиях, при использовании водяного охлаждения, стоматологическим бором высверливали круглое отверстие в кости угла нижней челюсти диаметром 2 мм. Если дефект кости сообщался с полостью рта, такие животные выбраковывались.

4. а). Группа с естественным ходом регенерации: Костный дефект сразу закрывали жевательной мышцей.

4. б). Группа с применением БТФС: Дефект кости плотно заполняли фибриновым сгустком, далее его прикрывали жевательной мышцей.

4. в). Группа с использованием АПСККП: Непосредственно в дефект вводили 100 мкл культуральной среды с АПСККП в виде суспензии с концентрацией $1x10^6$ клеток на 1 мл. Затем дефект костной ткани прикрывали жевательной мышцей.

4. г). Группа с применением БТФС с адсобированными АПСККП. Приготовленный ex tempore сгусток погружали в суспензию АПСККП на 2 часа, в связи с тем, что живые клетки, как и клетки перевиваемых клеточных культур, прикрепляются к любому твердому субстрату. Заполняли дефект кости БТФС с АПСККП и сверху помещали жевательную мышцу.

5. Накладывали швы на кожу, ушивали кожную рану викриловым швом и

снова дезинфицировали кожу спиртом.

Спустя 1, 2, 3, 4 и 5 недель после операции крыс выводили из эксперимента передозировкой диэтилового эфира.

Крысы с гнойно-воспалительными процессами в исследованиях не участвовали.

2.5 Подготовка материала к исследованию морфологическими и лучевыми методами

Нижнюю челюсть с дефектом фиксировали в 10 % растворе забуференного нейтрального формалина не менее 1 суток.

Фиксированные фрагменты нижней челюсти с удаленными мягкими тканями сначала использовали для радиовизиографических исследований. В компьютере радиовизиографа «Heliodont+» (Herona, Germany, 2010) установлена программа «Tomodent» (Anvisystem, Россия) для оценки плотности костной ткани. Плотность представлена как отношение данных в участке повреждения в условных единицах к результатам, полученным на соответствующих неповрежденных участков на противоположной неповрежденной стороне.

Затем нижнюю челюсть подвергали декальцинации раствором «Биодек R» (Bio Optica Milano, Италия) в соответствии с рекомендациями производителя. Далее фрагменты кости дегидратировали в этаноле, проводили через бензол и заключали в парафин. Гистологические срезы окрашивали гематоксилином и эозином (Саркисов Д.С., Перов Ю.Л., 1996), изучали при увеличении до 1200 раз на световом микроскопе Axioimager M1 (Zeiss, Германия).

2.6 Морфометрические и статистические методы обработки результатов

Морфометрию костной ткани нижней челюсти проводили в соответствии

с многочисленных рекомендациями научной литературы (Глаголев А.А., 1941; Шахламов В.А., 1967; Катинас Г.С., Полонский Ю.З., 1970; Плохинский Н.А., 1970; Вейбель Э.Р., 1970; Автандилов Г.Г., 1973, 1980, 2002; Христолюбова Н.Б., Шилов А.Г., 1974; Weibel E.R., 1979; Автандилов Г.Г. и др., 1981, 1984; Непомнящих Л.М. и др., 1986; Горчаков В.Н., 1997).

Для исследования относительной площади сосудов, их численной плотности и клеточных элементов в искусственно созданном отверстии в кости нижней челюсти по мере его заживления проводили измерения изображений, полученных при помощи цифровой видеокамеры микроскопа, на экране компьютера с использованием программного обеспечения морфологического модуля Axiovision (Zeiss, Германия). При использовании объектива с увеличением Х 5 конечная площадь тестового прямоугольника была равна 5 600 000 мкм^2 (стороны 2800х2000 мкм), при объективе Х 10 – 1 400 000 мкм^2 (стороны 1400х1000 мкм), при объективе Х 20 – 350 000 мкм^2 (стороны 700х500 мкм), при подсчете цитограммы клеток (применение объектива с увеличением Х 40) – 87 500 мкм^2 (стороны 350х250 мкм) (Майбородин И.В. и др., 2007б, 2008а, 2009а). В связи с рекомендациями J.R. Head и L.L. Seeling (1984), что для рандомизированного исследования достаточно 3 срезов, на каждом срезе делали 3-5 измерений. Так как процессы декальцинирования значительно меняют морфологию клеточных элементов, дифференцирование клеток в дефекте костной ткани не проводили.

Статистическая обработка полученных данных проводилась на статистической программе MS Excel 7.0 (Microsoft, USA), определялись среднее арифметическое и его ошибка. Достоверность отличий сравниваемых величин определялась на основании критерия Стьюдента (Плохинский Н.А., 1970). Статистически достоверным считали отличие с уровнем вероятности 95 % и выше.

3 ОСОБЕННОСТИ РЕГЕНЕРАЦИИ ПОВРЕЖДЕННОЙ КОСТИ НИЖНЕЙ ЧЕЛЮСТИ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ СПОСОБАХ ВЛИЯНИЯ НА РЕПАРАТИВНЫЙ ПРОЦЕСС

3.1 Регенерация кости нижней челюсти без внешнего воздействия на репаративный процесс

Спустя 1 неделю после экспериментального повреждения кости нижней челюсти крыс без последующего воздействия на регенерацию обнаружили, что дефект частично заполнен кровяным сгустком, в отдельных местах дефекта кости были найдены грануляции и структуры рыхлой волокнистой соединительной ткани. Было отмечено начало формирования кости в участке повреждения (отдельные островки молодой костной ткани и хряща среди кровяного сгустка и грануляций). Также отметили наличие множества нежизнеспособных фрагментов кости, видимо, образованных при моделировании дефекта (опилки). В таких участках были найдены макрофаги и многоядерные клетки (слившиеся макрофаги или остеокласты), образованные для лизиса костного детрита (Приложение Б рис. 3).

У одного животного участок повреждения костной ткани был обильно инфильтрирован лейкоцитами, преимущественно нейтрофилами, и содержал большой объем тканевого детрита. Скорее всего, в данном случае в ткани при моделировании дефекта попали бактерии, элиминация тканевого детрита с гноем идет посредством острой воспалительной реакции. Но и в этом наблюдении на краю отверстия начинается образование молодой кости (Приложение Б рис. 4).

Спустя 2 недели после моделирования повреждения дефекте был заполнен сливающимися островками молодой кости с гиперемированными кровеносными сосудами, проходящими на краю дефекта. Среди молодых структур иногда была найдена хрящевая ткань, чаще в центре участка повреждения (Приложение Б рис. 5).

К 3 неделе после операции дефект был полностью закрыт молодой костью. Участок хирургического вмешательства можно было найти только по структурам костной мозоли с хаотично расположенными костными балками. Также были обнаружены четко различимые полости с костным мозгом с гемопоэтическими клетками (Приложение Б рис. 6). Достаточно часто кость в дефекте практически сливалась с окружающей тканью, и только по единичным небольшим структурам костной мозоли можно было установить место моделирования травмы (Приложение Б рис. 7).

Спустя 4 недели у большинства крыс (7 из 9) место операции можно было обнаружить только по следам костной мозоли (Приложение Б рис. 8-10).

В одном случае практически весь созданный дефект был заполнен красным костным мозгом, где проходило много широких гиперемированных кровеносных сосудов (Приложение Б рис. 11).

Также у 1 крысы весь участок повреждения был заполнен фиброзной тканью, с большим числом кровеносных капилляров. Необходимо уточнить, что размер дефекта был меньше, чем при моделировании (Приложение Б рис. 12).

На последнюю точку наблюдения, 5 недель после операции, в данной группе животных участок повреждения у всех крыс был полностью замещен костью со структурами костной мозоли.

РЕЗЮМЕ

Таким образом, при регенерации поврежденной кости нижней челюсти без дополнительного воздействия на репарацию дефект заполняется кровяным сгустком, затем там появляются грануляции и к концу 1 недели начинается образование изолированных единичных островков молодой кости. Спустя 2 недели после повреждения отверстие заполнено сливающимися островками молодой кости. На более поздние сроки после операции дефект был полностью закрыт молодой костью, которая практически не была отлична от рядом

расположенной кости, за исключением структур костной мозоли, позволяющих установить участок операции. Иногда через 3 недели, иногда спустя 4 – на участке травмы были найдены четко сформированные структуры красного костного мозга.

3.2 Регенерация костной ткани в условиях применения аутологичного богатого тромбоцитами фибринового сгустка

Через 1 неделю после операции и заполнения участка повреждения БТФС, дефект было заполнен полностью соединенными островками молодой костной ткани. Таким образом регенерация кости на фоне использования фибриновых технологий уже через 7 дней закончилась заполнением искусственного отверстия (Приложение Б рис. 13).

Чаще всего спустя 2 недели после операции и применения фибрина дефект был закрыт молодой костью с большим количеством гиперемированных кровеносных сосудов на краю участка с травмой и хрящом посередине (Приложение Б рис. 14).

Через 3 недели после моделирования травмы и использования БТФС, точно также как и в контроле без него, дефект был заполнен молодой костью с костной мозолью на периферии и костным мозгом в центре.

К 4 неделе после применения БТФС для ускорения регенерации, как и при регенерации без воздействия, дефект был замещен костью. Однако, когда при операции (1 животное) случайно повредили корень зуба, отверстие сохранялось. Его края состояли из некротизированных тканей, там присутствовали остатки ростовой зоны поврежденного нижнего резца, в самом отверстии был обнаружен тканевой и клеточный детрит. Признаки заживления дефекта отсутствовали, также как не было и образования кровеносных сосудов и восстановления красного костного мозга. Можно сказать, что присутствовали микроскопические симптомы хронического остеомиелита и периостита (Приложение Б рис. 15).

На фоне использования фибриновых технологий на 5 неделе отверстие кости было заполнено молодой костью. В 1 случае, как и на прошлый срок, при моделировании травмы челюсти, был вовлечен корень резца. Восстановления структуры поврежденного зуба не было найдено, в его тканях и непосредственно в кости челюсти рядом с корнем резца было расположено много клеточного и тканевого детрита, также были сильно выражены морфологические симптомы воспаления. Необходимо отметить, что даже у этого животного имеются в наличии неоспоримые признаки начала репарационных процессов (Приложение Б рис. 16).

РЕЗЮМЕ

Спустя 1 неделю после моделирования травмы и применения фибриновых технологий дефект был уже заполнен слившимися соединенными островками молодой кости. Говоря другими словами, регенерация кости после использования фибрина уже в течение 1 недели способствовала заполнению искусственно созданного отверстия. К 2 неделе происходило дальнейшее выполнение дефекта молодой костью с большим количеством гиперемированных кровеносных сосудов на краю. Сформировавшаяся костная мозоль выполняла дефект кости уже к 21 суткам, на эту дату обнаружили начало формирования красного костного мозга на участке моделирования повреждения. Вышеприведенные эффекты сохранялись и на следующие даты эксперимента.

Можно заключить, что начало регенерации при применении БТФС для ускорения заживления очень интенсивное. Искусственно созданное отверстие быстро замещается молодой костью. Но необходимо отметить, что различия с контролем практически исчезают к 21 дню после хирургического вмешательства.

3.3 Регенерация нижнечелюстной кости после введения аутологичных плюрипотентных стромальных клеток

После применения АПСККП спустя 1 неделю дефект был заполнен кровяным сгустком, между которым и краем отверстия были расположены грануляции типичного строения. Следует обратить внимание на начало формирования костной ткани в участке повреждения (отдельные островки костной или хрящевой ткани между грануляций) (Приложение Б рис. 17). Можно сделать заключение, что состояние тканей к 7 дню практически соответствует таковому при регенерации без воздействия на этот процесс, но, вместе с этим, в грануляциях и структурах, заполняющих отверстие, расположено более значительное количество сосудов.

Через 2 недели после применения клеточных технологий дефект в нижнечелюстной кости был полностью закрыт молодой костью или хрящом с большим содержанием гиперемированных тонкостенных кровеносных сосудов, похожих на грануляции. Следует обратить внимание на присутствие структур (полостей и гемопоэтических клеток) красного костного мозга уже к этой дате. Таким образом, к этому сроку обнаружили резкое ускорение развития или восстановления не только костной ткани, но и гемопоэтической структуры.

В следующие даты происходило прогрессирующее слияние островков кости с постепенным формированием костной мозоли и быстрое восстановление гемопоэтического костного мозга (Приложение Б рис. 18).

Спустя 3 недели после использования АПСККП отверстие было полностью выполнено молодой костью со сформированными гемопоэтическими структурами между ними. Можно отметить развитие в костномозговых полостях широких тонкостенных кровеносных сосудов и наличие больших многоядерных клеток, которые, наиболее вероятно, являются мегакариоцитами, что еще раз подтверждает восстановление красного костного мозга (Приложение Б рис. 19).

К дате в 4 недели после применения клеточных технологий отверстие

было заполнено молодой костью с хорошо сформированными структурами красного костного мозга. Вместе с этим, у 1 животного были обнаружены большие участки с мелкими островками молодой костной ткани и широкими костномозговыми полостями, которые занимали большую площадь, чем сама кость. Возможно, что у этой крысы или был шире первоначальный размер отверстия за счет отламывания его краев, или такие разрастания костного мозга обусловлены эффектами АПСККП, которые способствуют репарации гемопоэтических структур не только в дефекте, но и на вблизи расположенных к месту операции участках (Приложение Б рис. 20).

К окончанию эксперимента, к 5 неделе после применения клеточных технологий отверстие в нижнечелюстной кости было полностью замещено костной мозолью.

РЕЗЮМЕ

Таким образом, можно заключить, что введение АПСККП непосредственно в дефект кости у крыс приводит к резкому возрастанию васкуляризации как в грануляциях в участке хирургического вмешательства, так и в самой молодой кости. Кроме того, АПСККП способствует более быстрой регенерации красного костного мозга в месте экспериментальной травмы. Следует обратить внимание на снижение количества воспалительных осложнений в этой группе крыс при сопутствующей травме корней резцов, расположенных в зоне операции.

3.4 Регенерация костной ткани на фоне использования фибринового сгустка с плюрипотентными стромальными клетками

На фоне использования БТФС с адсорбированными АПСККП через 1 неделю после операции чаще всего дефект нижнечелюстной кости был более, чем на 2/3, заполнен молодой сформированной костной тканью. Однако, эта

ткань была отделена от края «старой» кости (край дефекта) соединительной тканью с грануляциями. Не исключено, что образование кости в этих случаях начинается или идет быстрее с середины дефекта, а не с краев и постепенно подходит к краям дефекта, где еще остаются грануляции. В месте самого дефекта, еще не заполненном молодой костной тканью, также присутствовали грануляции с большим числом кровеносных сосудов (Приложение Б рис. 21).

В одном случае весь дефект был с краев отграничен соединительной тканью с грануляциями. Следует отметить присутствие крупных многоядерных клеток с эозинофильной цитоплазмой по краю этой соединительной ткани. Эти клетки являются или остеобластами или остеокластами и принимают участие в формировании и лизисе костной ткани. Также не исключено, что – этот многоядерные макрофаги со слившейся цитоплазмой, образовавшиеся для элиминации костных фрагментов и фибрина. В литературе имеются сообщения о возможности развития гранулематозного воспаления на препараты фибрина и даже аутофибрина (Колесников И.С., 2006; Майбородин И.В. и др., 2007а, 2009б). Центр отверстия оставался практически пустым, там были отмечены небольшие фрагменты жировой или рыхлой волокнистой соединительной ткани с выраженной васкуляризацией (Приложение Б рис. 22).

Спустя 2 недели после повреждения кости нижней челюсти при использовании БТФС с АПСККП в большинстве случаев дефект был полностью закрыт молодой костью или хрящом с хорошо развитой сосудистой сетьюбольшим числом кровеносных сосудов. Однако, в одном наблюдении отверстие кости был замещено рыхлой волокнистой соединительной тканью с очень широкими кровеносными сосудами и с участками геморрагий, иногда полностью отделяющими эту ткань от краев дефекта. По краю этих структур иногда присутствовали островки формирующейся костной ткани. В центре дефекта можно отметить формирование грубоволокнистой соединительной или фиброзной ткани, сходной по строению с надкостницей (Приложение Б рис. 23).

В большинстве случаев (8 из 12) к 3 неделе после применения БТФС с АПСККП повреждение нижнечелюстной кости было полностью замещено

молодой костью. Местонахождение отверстия можно определить только предположительно по структурам костной мозоли. Практически во всех наблюдениях были признаки формирования костного мозга (Приложение Б рис. 24).

Однако, в одном случае костная ткань с хаотично расположенными структурами кости в центре дефекта была практически полностью, за исключением тонких мостиков, отделена от краев дефекта. Между костью в центре и краем отверстия расположены широкие полнокровные кровеносные сосуды и имелись признаки формирования красного костного мозга (Приложение Б рис. 25).

После введения БТФС с адсорбированными АПСККП во всех наблюдениях через 4 недели участок травмы костной ткани был полностью закрыт костной тканью, отличающейся от окружающей кости наличием костной мозоли (Приложение Б рис. 26).

Спустя 5 недель после применения БТФС с АПСККП дефект костной ткани нижней челюсти был полностью закрыт костной тканью, которую можно отличить от «нормы» наличием структур костной мозоли.

РЕЗЮМЕ

При использовании аутологичного фибринового сгустка со стволовыми клетками для заполнения места повреждения кости были получены наилучшие результаты. Произошло значительное ускорение регенерации костного дефекта, практически за 2 недели у крыс, отверстие нижнечелюстной кости было замещено молодой костью.

3.5 Изучение особенностей регенерации дефекта нижней челюсти радиовизиографическими методами

После статистической обработки данных, полученных методом радиографической денситометрии, было обнаружено, что при естественном

заживлении плотность кости в участке повреждения была меньше соответствующего здорового участка на контралатеральной стороне на 1, 2, 3 и 5 неделях на 12,1 %, 11 %, 10,5 % и 9,3 %, соответственно. На срок в 4 недели достоверных отличий с другой стороной не было. То есть при естественном ходе репаративной регенерации происходит медленное и постепенное возрастание плотности костной ткани в участке повреждения, но даже к концу наблюдения (5 недель) не произошло нормализации плотности ткани в дефекте (табл. 2) (Приложение Б рис. 27-31).

После использования БТФС плотность кости в дефекте была меньше, относительно состояния на противоположной кости только на 1 и 2 неделях на 9,5 % и 4,9 %, соответственно. При этом произошло резкое увеличение плотности тканей в патологическом очаге на срок в 1-2 недели после операции, по сравнению с состоянием при спонтанной регенерации. А далее, начиная с 3 недели и вплоть до 5 недели, плотность тканей медленно уменьшалась, практически сравниваясь с величинами значений данных показателей при естественном ходе репаративной регенерации (табл. 2, 3) (Приложение Б рис. 27-31).

Таблица 2 – Плотность кости в дефекте нижней челюсти крыс относительно окружающих неповрежденных тканей (M ± m)

Срок после операции	Репаративный процесс			
	Естественное течение	После использования БТФС	После введения АПСККП	После применения БТФС с АПСККП
1	2	3	4	5
1 неделя	0,892 ± 0,053*	0,913 ± 0,017*	0,928 ± 0,044	0,917 ± 0,037*
2 недели	0,901 ± 0,035*	0,953 ± 0,021*	0,903 ± 0,046*	0,905 ± 0,057
3 недели	0,905 ± 0,02*	0,949 ± 0,036	0,96 ± 0,086	0,927 ± 0,04
4 недели	0,912 ± 0,059	0,942 ± 0,048	0,932 ± 0,052	0,922 ± 0,032*
5 недель	0,915 ± 0,016*[5]	0,924 ± 0,063	0,856 ± 0,028*	0,978 ± 0,02[2]

Примечания: 1. * - величины, достоверно отличающиеся от интактной кости на контралатеральной стороне ($p < 0,05$)

2. [2, 3, 4, 5] - величины, достоверно различающиеся между собой в данных колонках ($p < 0,05$)

Таблица 3 – Плотность кости в дефекте нижней челюсти относительно окружающих неповрежденных тканей при регенерации дефекта нижней челюсти после применения БТФС (M ± m)

Срок после операции	Репаративный процесс		Разность плотности (БТФС минус контроль) в дефекте
	Естественное течение	После применения БТФС	
1	2	3	4
1 неделя	0,892 ± 0,053*	0,913 ± 0,017*	0,021 ± 0,102
2 недели	0,901 ± 0,035*	0,953 ± 0,021*	0,052 ± 0,042
3 недели	0,905 ± 0,02*	0,949 ± 0,036	0,044 ± 0,067
4 недели	0,912 ± 0,059	0,942 ± 0,048	0,03 ± 0,055
5 недель	0,915 ± 0,016*	0,924 ± 0,063	0,009 ± 0,015

Примечания: 1. * - величины, достоверно отличающиеся от интактной кости на контралатеральной стороне ($p < 0,05$);

2. $^{2, 3}$ - величины, достоверно различающиеся между собой в данных колонках ($p < 0,05$)

На фоне введения АПСККП отличия с неповрежденным участком были обнаружены на 2 и 5 неделях: меньше на 10,7 % и 16,8 %, соответственно (Приложение Б рис. 27-31). Можно отметить, что через 7 суток после моделирования травмы плотность кости в патологическом участке нижнечелюстной кости после применения АПСККП была значительно больше, чем при естественном ходе репаративного процесса, к 2 неделе этот показатель слегка уменьшается, к 3 – снова возрастает, а затем уже постепенно снижается все оставшееся время и к окончанию эксперимента становится даже меньше, чем при естественном ходе репаративной регенерации. Можно также отметить 2 максимума плотности костной ткани при заживлении дефекта после введения АПСККП: спустя 7 и 21 день после моделирования травмы (табл. 2, 4).

Таблица 4 – Плотность кости в дефекте нижней челюсти относительно окружающих неповрежденных тканей при регенерации дефекта нижней челюсти после введения АПСККП (M ± m)

Срок после операции	Репаративный процесс		Разность плотности (АПСККП минус контроль) в дефекте
	Естественное течение	После применения АПСККП	
1	2	3	4
1 неделя	0,892 ± 0,053*	0,928 ± 0,044	0,036 ± 0,102
2 недели	0,901 ± 0,035*	0,903 ± 0,046*	0,002 ± 0,042
3 недели	0,905 ± 0,02*	0,96 ± 0,086	0,055 ± 0,067
4 недели	0,912 ± 0,059	0,932 ± 0,052	0,02 ± 0,055
5 недель	0,915 ± 0,016*	0,856 ± 0,028*	-0,059 ± 0,015

Примечания: 1. * - величины, достоверно отличающиеся от интактной кости на контралатеральной стороне ($p < 0,05$);

2. $^{2, 3}$ - величины, достоверно различающиеся между собой в данных колонках ($p < 0,05$)

После применения БТФС с АПСККП статистически достоверные отличия от контралатерального участка нижнечелюстной кости были найдены спустя 7 и 28 суток, на эти сроки величина этого показателя была ниже на 9,1 % и 8,5 %, соответственно. Кроме того, в этой группе животных спустя 5 недель после операции были отмечены достоверные различия плотности костной ткани: на 6,9 % больше, по сравнению с аналогичным сроком при естественном течении репаративных процессов. В этой группе животных после резкого подъема плотности костной ткани в участке повреждения через 1 неделю после операции, к 2 неделе величина значения указанного показателя незначительно снижается. Далее следует плавное возрастание плотности, приводящее к концу эксперимента к максимальным значениям, уже практически достоверно не отличающимся от таковых на контралатеральном участке. На этот же срок было отмечено и самые значительные различия с состоянием при естественном

течении регенераторных процессов (табл. 2, 5) (Приложение Б рис. 27-31).

Таблица 5 – Плотность кости в дефекте нижней челюсти относительно окружающих неповрежденных тканей при регенерации дефекта нижней челюсти после использования БТФС с АПСККП (M ± m)

Срок после операции	Репаративный процесс		Разность плотности (БТФС с АПСККП минус контроль) в дефекте
	Естественное течение	После применения БТФС с АПСККП	
1	2	3	4
1 неделя	0,892 ± 0,053*	0,917 ± 0,037*	0,025 ± 0,102
2 недели	0,901 ± 0,035*	0,905 ± 0,057	0,004 ± 0,042
3 недели	0,905 ± 0,02*	0,927 ± 0,04	0,022 ± 0,067
4 недели	0,912 ± 0,059	0,922 ± 0,032*	0,01 ± 0,055
5 недель	0,915 ± 0,016*[3]	0,978 ± 0,02[2]	0,063 ± 0,015

Примечания: 1. * - величины, достоверно отличающиеся от интактной кости на контралатеральной стороне ($p < 0,05$);

2. [2, 3] - величины, достоверно различающиеся между собой в данных колонках ($p < 0,05$)

Необходимо еще раз отметить, что на 4 неделе наблюдения после использования БТФС, введения АПСККП и применения БТФС с адсорбированными АПСККП плотность тканей в участке повреждения несколько снижается, причем после введения БТФС или АПСККП эти изменения прогрессируют до окончания эксперимента. Такое снижение плотности ткани в дефекте кости было максимально выраженным в группе животных с введением АПСККП, в этой группе необходимо отметить еще одно, менее выраженное, уменьшение величины значения этого показателя: на 2 неделе после операции (табл. 2-5) (Приложение Б рис. 27-31).

РЕЗЮМЕ

По результатам денситометрии дефекта кости нижней челюсти крыс при различном воздействии на процессы репаративной регенерации было обнаружено, что максимально выраженные процессы заживления происходят в группе крыс после применения БТФС с адсорбированными АПСККП, к окончанию эксперимента у некоторых особей участок повреждения на рентгенограммах практически не отличим от соседних участков. Необходимо особо отметить на периодическое снижение и повышение плотности кости в дефекте во всех группах животных, что, скорее всего, связано с развитием структур красного костного мозга.

3.6 Особенности васкуляризации в процессе заживления дефекта нижнечелюстной кости

При естественном ходе процессов репаративной регенерации относительная площадь всех сосудов на срезе тканей в участке повреждения на все сроки наблюдения была выше, чем на аналогичном месте контралатеральной стороны. Через 1, 2, 3, 4 и 5 недель после операции значение этого показателя была достоверно выше в 5,1, 4,3, 3,2, 2,2 раза и на 95,1 %, соответственно, чем на неповрежденной стороне (табл. 6, 7) (Приложение Б рис. 3-12).

Спустя 1 неделю после операции относительная плотность сосудов была выше на 61,7 %, в 2,3 и 2,6 раза, соответственно, чем на 3, 4 и 5 неделях. К 2 неделе величина указанного показателя была выше на 35,1 %, 94,3 % и в 2,2 раза, соответственно, также по сравнению с состоянием на 3, 4 и 5 неделях. На 3 неделе площадь сосудистого компонента была выше на 43,8 % и 62,4 %, также соответственно, но только относительно величин показателей на 4 и 5 неделях (табл. 6) (Приложение Б рис. 3-12).

Таблица 6 – Относительная площадь сосудов (A_A) в дефекте нижней челюсти относительно окружающих неповрежденных тканей при регенерации дефекта нижней челюсти (M ± m)

Репаративный процесс	Срок после операции				
	1 неделя	2 недели	3 недели	4 недели	5 недель
1	2	3	4	5	6
Естественное течение	14,6 ± 1,77*$^{4, 5, 6}$	12,2 ± 1,03*$^{4, 5, 6}$	9,03 ± 1,05*$^{2, 3, 5, 6}$	6,28 ± 0,617*$^{2, 3, 4}$	5,56 ± 0,99*$^{2, 3, 4}$
После использования БТФС	14 ± 0,868*$^{3, 4, 5, 6}$	10,3 ± 0,665*$^{2, 4, 5, 6}$	7,41 ± 0,967*$^{2, 3}$	5,79 ± 0,821*$^{2, 3}$	6,94 ± 0,507*$^{2, 3}$
После введения АПСККП	14,2 ± 1,21*$^{3, 4, 5, 6}$	9,88 ± 0,721*$^{2, 5, 6}$	8,33 ± 1,93*^{2}	6,48 ± 0,79*$^{2, 3}$	5,65 ± 0,683*$^{2, 3}$
После применения БТФС с АПСККП	12,7 ± 1,19*$^{4, 5, 6}$	9,49 ± 1,19*$^{4, 5, 6}$	6,4 ± 0,619*$^{2, 3}$	5,56 ± 0,684*$^{2, 3}$	4,91 ± 0,878$^{2, 3}$

Примечания: 1. A_A – относительная площадь структур на поперечном срезе (%)

2. * - величины, достоверно отличающиеся от интактного контроля (2,85 ± 0,619 %) ($p < 0,05$)

3. $^{2, 3, 4, 5, 6}$ - величины, достоверно различающиеся между собой в данных колонках ($p < 0,05$)

Таблица 7 – Относительная площадь сосудов (A_A) в дефекте нижней челюсти относительно окружающих неповрежденных тканей при регенерации дефекта нижней челюсти (M ± m)

Срок после операции	Репаративный процесс			
	Естественное течение	После использования БТФС	После введения АПСККП	После применения БТФС с АПСККП
1	2	3	4	5
1 неделя	14,58 ± 1,77*	14 ± 0,868*	14,2 ± 1,21*	12,7 ± 1,19*
2 недели	12,2 ± 1,03*	10,3 ± 0,665*	9,88 ± 0,721*	9,49 ± 1,19*
3 недели	9,03 ± 1,05*[5]	7,41 ± 0,967*	8,33 ± 1,93*	6,4 ± 0,619*[2]
4 недели	6,28 ± 0,617*	5,79 ± 0,821*	6,48 ± 0,79*	5,56 ± 0,684*
5 недель	5,56 ± 0,99*	6,94 ± 0,507*[5]	5,65 ± 0,683*	4,91 ± 0,878[3]

Примечания: 1. A_A – относительная площадь структур на поперечном срезе (%)

2. * - величины, достоверно отличающиеся от интактного контроля (2,85 ± 0,619 %) ($p < 0,05$)

3. [2, 3, 4, 5] - величины, достоверно различающиеся между собой в данных колонках ($p < 0,05$)

После использования БТФС площадь сосудов также на все точки эксперимента была больше, чем на аналогичном месте противоположной стороны. На 1, 2, 3, 4 и 5 неделях после хирургического вмешательства величина значения данного показателя была выше в 4,9, 3,6, 2,6, 2 и 2,4 раза, соответственно, по сравнению с костью на неповрежденной стороне (табл. 6, 7) (Приложение Б рис. 13-16).

Через 1 неделю после операции относительная плотность сосудов была выше на 35,9 %, 88,9 %, в 2,4 и 2 раза, соответственно, чем на 2, 3, 4 и 5 неделях. К 2 неделе сосудов было больше на 39 %, 77,9 % и 48,4 %, соответственно, чем на 3, 4 и 5 неделях (табл. 6) (Приложение Б рис. 13-16).

После введения АПСККП относительная площадь сосудов на срезе тканей в участке повреждения также на все сроки наблюдения была выше, чем на аналогичном месте контралатеральной стороны. Через 1, 2, 3, 4 и 5 недель после операции процент сосудистого компонента был выше в 5, 3,5, 2,9, 2,3 раза и на 98,2 %, соответственно, чем на неповрежденной стороне (табл. 6, 7) (Приложение Б рис. 17-20).

Спустя 1 неделю после операции относительная плотность сосудов была выше на 43,7 %, 70,5 %, в 2,2 и 2,5 раза, соответственно, чем на 2, 3, 4 и 5 неделях. К 2 неделе сосудов было больше на 52,5 % и 74,9 %, соответственно, чем на 4 и 5 неделях (табл. 6) (Приложение Б рис. 17-20).

В результате БТФС с АПСККП площадь сосудов на все точки эксперимента, кроме срока в 5 недель, была больше, чем на аналогичном месте противоположной стороны. На 1, 2, 3 и 4 неделях после хирургического вмешательства величина значения данного показателя была выше в 4,5, 3,3, 2,2 раза и на 95,1 %, соответственно, по сравнению с костью на неповрежденной стороне (табл. 6, 7) (Приложение Б рис. 21-26).

Через 1 неделю после операции относительная плотность сосудов была выше на 98,4 %, в 2,3 и 2,6 раза, соответственно, чем на 3, 4 и 5 неделях. К 2 неделе процент сосудов стал выше на 48,3 %, 70,7 % и 93,3 %, соответственно, чем спустя 3, 4 и 5 недель (табл. 6) (Приложение Б рис. 21-26).

При сравнении относительной площади сосудов отдельно на каждый срок при различных способах воздействия на ход регенераторных процессов обнаружили, что через 21 сутки сосудов после применения БТФС с адсорбированными АПСККП стало меньше на 41,1 %, чем при заживлении без дополнительного вмешательства. Кроме того, на 5 неделе площадь сосудов на срезе дефекта костной ткани на фоне использования БТФС с АПСККП была меньше на 13,2 %, чем после имплантации только БТФС (табл. 7) (Приложение Б рис. 3-26).

Во время спонтанного заживления численная плотность сосудов на тестовой площади гистологического среза в участке повреждения на все сроки наблюдения была выше, чем на аналогичном месте контралатеральной стороны. Через 1, 2, 3, 4 и 5 недель после операции величина этого показателя была статистически достоверно больше в 3,4, 3,4, 2,3 раза, на 74,2 % и 35,1 %, соответственно, по сравнению с сосудами в кости на неповрежденной стороне (табл. 8, 9) (Приложение Б рис. 3-12).

Спустя 1 неделю после операции число сосудов на определенной площади гистологического среза было выше на 48,2 %, 94,3 % и в 2,5 раза, соответственно, чем на 3, 4 и 5 неделях. К 2 неделе абсолютное число сосудоистого компонента была больше на 50,9 %, 97,7 % и в 2,5 раза, соответственно, также по сравнению с состоянием на 3, 4 и 5 неделях. На 3 неделе содержание сосудов было выше на 31 % и 68,9 %, также соответственно, но только относительно величин показателей на 4 и 5 неделях (табл. 8) (Приложение Б рис. 3-12).

После использования БТФС количество сосудов на 10^5 мкм^2 площади среза в участке повреждения также на все точки эксперимента было больше, чем на аналогичном месте противоположной стороны. На 1, 2, 3, 4 и 5 неделях после хирургического вмешательства величина значения данного показателя была выше в 2,8, 2,3 раза, на 60,2 %, 57,2 % и 31,1 %, соответственно, по сравнению с костью на неповрежденной стороне (табл. 8, 9) (Приложение Б рис. 13-16).

Таблица 8 – Численная плотность сосудов (N_A) в дефекте нижней челюсти относительно окружающих неповрежденных тканей при регенерации дефекта нижней челюсти (M ± m)

Репаративный процесс	Срок после операции				
	1 неделя	2 недели	3 недели	4 недели	5 недель
1	2	3	4	5	6
Естественное течение	33,8 ± 2,35*$^{4, 5, 6}$	34,4 ± 1,16*$^{4, 5, 6}$	22,8 ± 1,17*$^{2, 3, 5, 6}$	17,4 ± 1,62*$^{2, 3, 4}$	13,5 ± 1,47*$^{2, 3, 4}$
После использования БТФС	27,9 ± 1,52*$^{4, 5, 6}$	22,9 ± 2,23*$^{4, 5, 6}$	16 ± 1,52*$^{2, 3}$	15,7 ± 1,93*$^{2, 3}$	13,1 ± 1,11*$^{2, 3}$
После введения АПСККП	37,5 ± 1,71*$^{3, 4, 5, 6}$	24,7 ± 2,22*$^{2, 5, 6}$	21,7 ± 1,71*$^{2, 6}$	17 ± 1,61*$^{2, 3}$	15,5 ± 1,74*$^{2, 3, 4}$
После применения БТФС с АПСККП	27,3 ± 1,94*$^{3, 4, 5, 6}$	20,7 ± 0,892*$^{2, 4, 5, 6}$	13,8 ± 0,964*$^{2, 3}$	13,4 ± 1,17*$^{2, 3}$	12,4 ± 1,74$^{2, 3}$

Примечания: 1. N_A - численная плотность сосудов на 10^5 мкм^2 площади среза

2. * - величины, достоверно отличающиеся от интактного контроля (9,99 ± 0,92 %) ($p < 0,05$)

3. $^{2, 3, 4, 5, 6}$ - величины, достоверно различающиеся между собой в данных колонках ($p < 0,05$)

Таблица 9 – Численная плотность сосудов (N_A) в дефекте нижней челюсти относительно окружающих неповрежденных тканей при регенерации дефекта нижней челюсти (M ± m)

Срок после операции	Репаративный процесс			
	Естественное течение	После использования БТФС	После введения АПСККП	После применения БТФС с АПСККП
1	2	3	4	5
1 неделя	33,8 ± 2,35*[3]	27,9 ± 1,52*[2, 4]	37,5 ± 1,71*[3, 5]	27,3 ± 1,94*[4]
2 недели	34,4 ± 1,16*[3, 4, 5]	22,9 ± 2,23*[2]	24,7 ± 2,22*[2]	20,7 ± 0,892*[2]
3 недели	22,8 ± 1,17*[3, 5]	16 ± 1,52*[2, 4]	21,7 ± 1,71*[3, 5]	13,8 ± 0,964*[2, 4]
4 недели	17,4 ± 1,62*	15,7 ± 1,93*	17 ± 1,61*	13,4 ± 1,17*
5 недель	13,5 ± 1,47*	13,1 ± 1,11*	15,5 ± 1,74*	12,4 ± 1,74

Примечания: 1. N_A - численная плотность сосудов на 10^5 мкм^2 площади среза

2. * - величины, достоверно отличающиеся от интактного контроля (9,99 ± 0,92 %) ($p < 0,05$)

3. [2, 3, 4, 5] - величины, достоверно различающиеся между собой в данных колонках ($p < 0,05$)

Через 1 неделю после операции численность сосудов была выше на 74,4 %, 77,7 % и в 2,1 раза, соответственно, чем на 3, 4 и 5 неделях. К 14 суткам абсолютное содержание сосудов стало больше на 43,1 %, 45,9 % и 74,8 %, соответственно, чем спустя 3, 4 и 5 недель (табл. 8) (Приложение Б рис. 13-16).

После введения АПСККП содержание сосудов на единице площади среза тканей в дефекте кости нижней челюсти также на все сроки наблюдения было выше, чем на аналогичном месте контралатеральной стороны. Через 1, 2, 3, 4 и 5 недель после операции сосудов стало больше в 3,8, 2,5, 2,2 раза, на 70,2 % и 55,2 %, соответственно, по сравнению с костью на неповрежденной стороне (табл. 8, 9) (Приложение Б рис. 17-20).

Спустя 1 неделю после операции численная плотность сосудов была выше на 51,8 %, 72,8 %, в 2,2 и 2,4 раза, соответственно, чем на 2, 3, 4 и 5 неделях. Через 14 дней абсолютная величина сосудистого компонента стала больше на 45,3 % и 59,4 %, соответственно, чем через 4 и 5 недель. На 3 неделе сосудов было больше на 40 %, относительно 5 недели (табл. 8) (Приложение Б рис. 17-20).

После применения БТФС с адсорбированными АПСККП число сосудов на 10^5 мкм^2 площади среза на все точки эксперимента, кроме срока в 5 недель, было больше, чем на аналогичном месте противоположной стороны. На 1, 2, 3 и 4 неделях после хирургического вмешательства величина значения данного показателя была выше в 2,7, 2,1 раза, на 38,1 % и 34,1 %, соответственно, по сравнению с костью на неповрежденной стороне (табл. 8, 9) (Приложение Б рис. 21-26).

Через 7 дней после хирургического вмешательства объемная плотность сосудов была больше на 31,9 %, 97,8 %, в 2 и 2,2 раза, соответственно, чем на 2, 3, 4 и 5 неделях. Спустя 14 суток сосудов стало больше на 50 %, 54,5 % и 66,9 %, соответственно, чем через 2, 3, 4 и 5 недель (табл. 8) (Приложение Б рис. 21-26).

При сравнении численной плотности сосудов отдельно на каждый срок при разных методах влияния на процессы заживления отметили, что на срок в 7

дней сосудов после имплантации БТФС стало меньше на 21,1 % и 34,4 %, соответственно, относительно состояния при заживлении без воздействия и после применения клеточных технологий. После применения БТФС с АПСККП на этот срок сосудов было меньше на 37,4 %, относительно состояния после использования АПСККП (табл. 9) (Приложение Б рис. 3-26).

Через 2 недели число сосудов на 10^5 мкм^2 площади среза участка повреждения костной ткани при спонтанной регенерации было больше на 50,2 %, 39,3 % и 66,2 %, соответственно, чем после использования БТФС, после введения АПСККП и после применения БТФС с АПСККП (табл. 9) (Приложение Б рис. 3-26).

На срок в 3 недели содержание сосудов на единице площади среза дефекта кости нижней челюсти после использования БТФС стало ниже на 42,5 % и 35,6 %, соответственно, относительно состояния при заживлении без воздействия и после применения клеточных технологий. После применения БТФС с АПСККП на этот срок васкуляризация сократилась на 65,2 % и 57,2 %, соответственно, чем при естественном регенераторном процессе и после введения АПСККП (табл. 9) (Приложение Б рис. 3-26).

РЕЗЮМЕ

По результатам изучения относительной площади и численной плотности сосудов на срезе травмированного участка нижнечелюстной кости крысы при различных способах влияния на регенераторные процессы было найдено, что наиболее быстро возвращение к норме указанных показателей происходит у животных после применения БТФС с АПСККП, к концу времени наблюдения только в этой группе произошла нормализация васкуляризации дефекта костной ткани. На фоне применения БТФС и после использования БТФС с адсорбированными АПСККП на срок с 1 по 3 неделю численная плотность сосудов в поврежденной кости стала ниже, чем при естественном ходе регенерации и после введения АПСККП.

3.7 Изменения численной плотности клеток в оценке состояния поврежденного участка нижнечелюстной кости

При естественном протекании процессов репаративной регенерации численная плотность всех клеточных элементов на срезе тканей в участке повреждения на все сроки наблюдения была выше, чем на аналогичном месте контралатеральной стороны. Через 1, 2, 3, 4 и 5 недель после операции клеток стало больше в 23, 16,1, 2,2 раза, на 62,4 % и 40,2 %, соответственно, по сравнению с сосудами в кости на неповрежденной стороне (табл. 10, 11) (Приложение Б рис. 3-12).

Спустя 1 неделю после операции число клеток на тестовой площади гистологического среза было выше на 43,3 %, в 10,2, 14,2 и 16,4 раза, соответственно, чем на 2, 3, 4 и 5 неделях. Через 14 дней клеток стало больше 7,2, 9,9 и 11,5 раза, соответственно, чем на 3, 4 и 5 неделях. Через 21 день содержание клеточных элементов стал выше на 59,9 %, но только относительно величины показателя на 5 неделе (табл. 10) (Приложение Б рис. 3-12).

После использования БТФС содержание клеток на 10^5 мкмк^2 площади среза только на 1, 2, 3 и 4 неделях эксперимента было больше в 3,4 раза, на 95,2 %, 72,2 % и 48,8 %, соответственно, чем на аналогичном месте противоположной стороны (табл. 10, 11) (Приложение Б рис. 13-16).

Через 7 суток после хирургического вмешательства численная плотность всех клеточных элементов была выше на 76,5 %, в 2, 2,3 и 2,9 раза, соответственно, чем на 2, 3, 4 и 5 неделях. На 2 и 3 неделях клеток стало больше на 62,2 % и 43,1 %, соответственно, чем в момент окончания наблюдения, на 5 неделе (табл. 10) (Приложение Б рис. 13-16).

После введения АПСККП содержание клеток на определенной площади гистологического среза в участке повреждения также только через 1, 2, 3 и 4 недели после операции было выше в 16,1, 9,3 раза, на 74,9 % и 34,2 %, соответственно, чем в аналогичном участке на неповрежденной стороне (табл. 10, 11) (Приложение Б рис. 17-20).

Таблица 10 – Численная плотность всех клеток (N_A) в дефекте нижней челюсти относительно окружающих неповрежденных тканей при регенерации дефекта нижней челюсти (M ± m)

Репаративный процесс	Срок после операции				
	1 неделя	2 недели	3 недели	4 недели	5 недель
1	2	3	4	5	6
Естественное течение	963 ± 62,8*$^{3, 4, 5, 6}$	672 ± 58,3*$^{2, 4, 5, 6}$	93,7 ± 9,92*$^{2, 3, 6}$	67,9 ± 9,05*$^{2, 3}$	58,6 ± 6,07*$^{2, 3, 4}$
После использования БТФС	144 ± 13,4*$^{3, 4, 5, 6}$	81,6 ± 8,88*$^{2, 6}$	72 ± 8,57*$^{2, 6}$	62,2 ± 6,43*^{2}	50,3 ± 3,97$^{2, 3, 4}$
После введения АПСККП	673 ± 54,5*$^{3, 4, 5, 6}$	391 ± 47,3*$^{2, 4, 5, 6}$	73,1 ± 7,53*$^{2, 3, 5}$	56,1 ± 3,48*$^{2, 3, 4}$	55,5 ± 4,99$^{2, 3}$
После применения БТФС с АПСККП	140 ± 9,75*$^{3, 4, 5, 6}$	68,3 ± 5,88*$^{2, 6}$	61,8 ± 3,79*$^{2, 6}$	56,1 ± 4,95^{2}	47,7 ± 3,47$^{2, 3, 4}$

Примечания: 1. N_A - численная плотность всех клеточных элементов на 10^5 мкм^2 площади среза

2. * - величины, достоверно отличающиеся от интактного контроля (41,8 ± 5,68 %) ($p < 0,05$)

3. $^{2, 3, 4, 5, 6}$ - величины, достоверно различающиеся между собой в данных колонках ($p < 0,05$)

Таблица 11 – Численная плотность всех клеток (N_A) в дефекте нижней челюсти относительно окружающих неповрежденных тканей при регенерации дефекта нижней челюсти (M ± m)

Срок после операции	Репаративный процесс			
	Естественное течение	После использования БТФС	После введения АПСККП	После применения БТФС с АПСККП
1	2	3	4	5
1 неделя	963 ± 62,8*$^{3, 4, 5}$	144 ± 13,4*$^{2, 4}$	673 ± 54,5*$^{2, 3, 5}$	140 ± 9,75*$^{2, 4}$
2 недели	672 ± 58,3*$^{3, 4, 5}$	81,6 ± 8,88*$^{2, 4}$	391 ± 47,3*$^{2, 3, 5}$	68,3 ± 5,88*$^{2, 4}$
3 недели	93,7 ± 9,92*^{5}	72 ± 8,57*	73,1 ± 7,53*	61,8 ± 3,79*^{2}
4 недели	67,9 ± 9,05*	62,2 ± 6,43*	56,1 ± 3,48*	56,1 ± 4,95
5 недель	58,6 ± 6,07*	50,3 ± 3,97	55,5 ± 4,99	47,7 ± 3,47

Примечания: 1. N_A - численная плотность всех клеточных элементов на 10^5 мкм^2 площади среза

2. * - величины, достоверно отличающиеся от интактного контроля (41,8 ± 5,68 %) ($p < 0,05$)

3. $^{2, 3, 4, 5}$ - величины, достоверно различающиеся между собой в данных колонках ($p < 0,05$)

Спустя 1 неделю после операции количество клеток на 10^5 мкмк^2 площади среза тканей в дефекте кости было выше на 72,1 %, в 9,2, 12 и 12,1 раза, соответственно, чем на 2, 3, 4 и 5 неделях. Через 14 дней клеток стало больше в 5,3, 7 и 7 раз, соответственно, чем на 3, 4 и 5 неделях. На 3 неделе число клеточных элементов стало выше на 30,3 %, по сравнению с состоянием к 4 неделе (табл. 10) (Приложение Б рис. 17-20).

После имплантации БТФС с адсорбированными АПСККП содержание клеточных элементов на единице площади гистологического среза уже кроме срока в 4 и 5 недель было больше, чем на аналогичном месте контралатеральной стороны. Только на 1, 2 и 3 неделях после хирургического вмешательства клеток было выше в 3,3 раза на 63,4 % и 47,8 %, соответственно, чем на неповрежденной стороне (табл. 10, 11) (Приложение Б рис. 21-26).

Через 7 дней после моделирования травмы численная плотность клеток стала выше в 2, 2,3, 2,5 и 2,9 раза, соответственно, чем на 2, 3, 4 и 5 неделях. Спустя 14 и 21 сутки клеток стало больше на 43,2 % и 29,6 %, соответственно, чем на 5 неделе (табл. 10) (Приложение Б рис. 21-26).

В результате сравнении численной плотности всех клеточных элементов отдельно на каждый срок при различных способах влияния на течение заживления было отмечено, что на точку в 7 суток содержание всех клеток после имплантации БТФС было ниже в 6,7 и 4,7 раза, соответственно, чем при заживлении без воздействия и после введения АПСККП. После внедрения БТФС с АПСККП на указанный срок всех клеточных элементов стало меньше в 6,9 и 4,8 раза, соответственно, чем при естественном течении репаративных процессов и после использования АПСККП. Также после введения АПСККП количество всех клеток было ниже, чем при регенерации без каких-либо воздействий на 43,1 % (табл. 11) (Приложение Б рис. 3-26).

Через 14 дней число клеток на 10^5 мкм^2 площади гистологического среза участка повреждения нижнечелюстной кости после внедрения БТФС было меньше в 8,2 и 4,8 раза, соответственно, чем при заживлении без дополнительных воздействий и после введения АПСККП. После применения

БТФС с АПСККП численность всех клеточных элементов было меньше в 9,8 и 5,7 раза, соответственно, чем при естественном ходе репарации и после использования АПСККП. Необходимо обратить внимание, что после введения АПСККП клеток было меньше, чем при самостоятельной регенерации на 71,9 % (табл. 11) (Приложение Б рис. 3-26).

На срок в 21 сутки число всех клеток на тестовой площади гистологического среза после имплантации БТФС с АПСККП стало ниже на 51,6 %, чем при естественном течении регенераторного процесса (табл. 11) (Приложение Б рис. 21-26).

РЕЗЮМЕ

В результате исследования численной плотности клеточных элементов на срезе участка повреждения нижнечелюстной кости при различных способах влияния на регенерацию было отмечено, что наиболее быстро возвращение к контрольному уровню указанных показателей происходит у животных после применения БТФС с адсорбированными АПСККП. При естественном ходе репаративных процессов к концу времени наблюдения так и не произошла нормализация значения величины данного показателя. После использования БТФС или введения АПСККП количество клеток на единице площади среза к 5 неделе после операции соответствовало интактному контролю. И только после применения БТФС с АПСККП возвращение к норме было найдено уже через 4 недели. Кроме того, на фоне использования БТФС и после применения БТФС с АПСККП на срок в 1 и 2 недели численная плотность клеток в участке регенерирующей кости была статистически достоверно меньше, чем при естественном ходе регенерации и после введения АПСККП.

4 ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

При повреждении кости нижней челюсти и естественном течении репаративной регенерации (в контроле) отверстие сразу после травмы заполняется кровью и там формируется сгусток из фибрина с большим числом эритроцитов. Через 1 неделю, при отсутствии инфекции и гнойно-воспалительных осложнений, в дефекте кости среди фрагментов кровяного сгустка, участков рыхлой волокнистой соединительной ткани и грануляций уже присутствовали отдельные островки молодой костной ткани. В некоторых случаях репарационные процессы шли очень быстро, и на этот срок уже все отверстие кости было заполнено островками вновь сформированной костной ткани, которые начали сливаться.

Через 2 недели в контрольной группе отверстие в кости нижней челюсти было полностью закрыто островками молодой костной ткани с большим числом полнокровных кровеносных сосудов по краю дефекта.

На все последующие сроки после повреждения кости нижней челюсти в контроле отверстие было полностью замещено вновь образованной костной тканью. О месте операции можно было судить по оставшимся крупным сосудам и хаотично расположенным костным балкам (костная мозоль). Иногда кость в дефекте практически не отличалась от окружающей ткани, только расположенные в некоторых участках структуры костной мозоли позволяли найти место хирургического вмешательства. В некоторых случаях на 3 неделе, в других – к четырем неделям в кости на месте дефекта появились полностью сформированные полости с красным костным мозгом.

По данным денситометрии процессов регенерации дефекта кости нижней челюсти крыс при естественном заживлении плотность кости в участке повреждения постепенно нарастала и приближалась к таковой у здоровой кости, но даже на срок в 5 недель было еще достоверное отличие плотности костной ткани в участке повреждения от соответствующего места на контралатеральной стороне.

Спустя 1 неделю **после операции с последующим заполнением отверстия в кости нижней челюсти БТФС** не происходит замещения полости дефекта кровяным сгустком, нет необходимости тратить время на лизис и элиминацию эритроцитов посредством фагоцитоза. В большинстве случаев уже к этому сроку весь дефект костной ткани был заполнен слившимися островками вновь сформированной кости. То есть регенерация кости после применения БТФС уже к 1 неделе привела к практически полному заполнению искусственного дефекта.

Ко второй неделе после применения БТФС происходило дальнейшее постепенное заполнение дефекта вновь образованной костной тканью и формирование костной мозоли, которая полностью закрывала отверстии кости уже к 3 неделе, к этому же сроку было отмечено образование в месте хирургического вмешательства полостей с красным костным мозгом. Указанные изменения той или иной степени выраженности сохранялись и на последующие сроки наблюдения.

То есть начало репарационных процессов при повреждении кости нижней челюсти и применении БТФС проходит интенсивнее, чем при спонтанном заживлении. Отверстие раньше и интенсивнее заполняется островками костной ткани, видимо, формирование костной ткани начинается сразу после операции без потери времени на лизис и удаление кровяного сгустка с большим числом эритроцитов. Костные островки раньше сливаются и формируют молодую костную ткань. Однако, эти различия практически нивелируются к 3 неделе после операции и далее регенерация идет практически одинаково.

После использования БТФС плотность кости в дефекте была меньше, относительно состояния на противоположной кости только на 1 и 2 неделях.

БТФС ограничивает диссеминацию воспалительного процесса. Образование de novo кровеносных и лимфатических сосудов, устойчивость контакта эпителиоцитов с соединительнотканной подложкой, прочность ее межуточного вещества к энзиматическому повреждению возможно активировать использованием фибрина (Voiculescu D. et al., 1968; Pop M. et al.,

1969; Romanos G.E., Strub J.R., 1998; Колесников И.С., 2006; Choukroun J. et al., 2006б; Dohan D.M. et al., 2006в; Майбородин И.В. и др., 2007а, 2008б, 2009б; Рагимова Т.М., 2009; Ковынцев Д.Н., 2010; Maiborodin I. et al., 2010). То есть, при введении фибринового сгустка в полость раны, видимо, можно защитить окружающие ткани как от распространения микроорганизмов, так и от излишнего воздействия лизосомальных ферментов фагоцитов. Происходит ограничение деструкции и, в связи с этим, раньше начинаются регенераторные процессы, в тканях оказывается меньший объем антигенов и детрита, происходит более быстрое очищение раны.

Кроме этого, фибриновый сгусток является матрицей, по которой мигрируют лейкоциты (нейтрофилы), эндотелиоциты и фибробласты (Anitua E. et al., 2004, 2005, 2006а, 2006б; Yamazaki S. et al., 2005; Hokugo A. et al., 2005; Kaijzel E.L. et al., 2006; McDougall S. et al., 2006; Schmidt M.B. et al., 2006; Schwartz-Arad D. et al., 2007).

Во время регенерации тканей к фибрину присоединяются цитокины, регулирующие формирование новых сосудов. Также фибрин совместно с иммуноглобулинами вызывает миграцию лейкоцитов, лизис и удаление детрита (Lindskog S., Lilja E., 1983; Chung S.I. et al., 1997). Во время заживления фибрин уменьшает потерю крови и служит направляющей матрицей для роста сосудов (Kaijzel E.L. et al., 2006). При заживлении кожного дефекта тромбоциты, дермальные фибробласты и эндотелиальные клетки действуют в кооперации. Тромбоспондин-1 из тромбоцитов стимулирует тубулогенез (начальная стадия ангиогенеза) эндотелиоцитами (Kellouche S. et al., 2007).

Дериваты распада фибрина активируют миграцию остеобластов и клеток соединительной ткани и, соответственно, ускоренную репарацию дефектов костей в экспериментальной практике. Препараты фибрина стимулируют рост и функционирование фибробластов. Можно заключить, что препараты на основе фибрина активируют регенерацию повреждений костей (Yaman Z., 1998; Fabris G. et al., 1998; Ren W.H. et al., 1999, 2000а, 2000б; Soffer E. et al., 2003).

Можно сказать, что БТФС является аналогом фибринового клея,

сделанного ex tempore из собственной крови. БТФС используют для убыстрения репаративных процессов при приживлении имплантов в клинике. БТФС включает в себя множество клеточных релизов. Эти клеточные сигналы активируют вызывают миграцию, пролиферацию и дифференцировку клеток мезенхимального (в том числе, клеток кости, хряща и стромальные клеточные элементы) и эпителиальных происхождения, ускоряют образование межуточного вещества соединительной ткани (Anitua E., 1999, 2001, 2006; Sanchez A.R. et al., 2003; Anitua E. et al., 2004, 2005, 2006a, 2006б, 2007; Yamazaki S. et al., 2005; Hokugo A. et al., 2005; Schmidt M.B. et al., 2006; Sanchez M. et al., 2007; Schwartz-Arad D. et al., 2007). Следует отметить, что действие БТФС более выражено, чем простое сочетание всех известных веществ, возможно, за счет присутствия в фибрине еще неизвестных факторов и потенцирования действия некоторых из них (Kawase T. et al., 2005a, 2005б).

Мигрируя по фибрину (Anitua E., 2006; Anitua E. et al., 2006a, 2006б; Schmidt M.B. et al., 2006; Schwartz-Arad D. et al., 2007), нейтрофилы более быстро достигают всех участков раны, даже покрытых наслоениями гноя и детрита и, таким образом, ткани более быстро очищаются от антигенных веществ (микроорганизмы и тот же детрит). Кроме того, при передвижении по фибриновому сгустку нейтрофилы частично «разжижают» его своими ферментами и даже плотный сгусток становится похожим на сеть.

Фибробласты, располагаясь в фибриновой сети (Anitua E., 2006; Anitua E. et al., 2006a, 2006б; Schmidt M.B. et al., 2006; McDougall S. et al., 2006; Schwartz-Arad D. et al., 2007), начинают синтез коллагена не только со дна раны, но и из ее полости, таким образом более быстро на месте формируется рубцовая ткань.

Следует отметить, что фибрин не только облегчает миграцию фибробластов, но и сам по себе ускоряет синтез соединительной ткани (Anitua E., 2006; Anitua E. et al., 2006a, 2006б; Колесников И.С., 2006; Майбородин И.В. и др., 2007а, 2008б, 2009б; Schmidt M.B. et al., 2006; Ito K. et al., 2006; Schwartz-Arad D. et al., 2007; You T.M. et al., 2007a, 2007б; Lee H.J. et al., 2007; Рагимова Т.М., 2009; Maiborodin I. et al., 2010; Ковынцев Д.Н., 2010).

Отмечено усиление регенерации костной ткани (костный дефект в эксперименте) при применении обогащенной тромбоцитами плазмы. Это подтверждено рентгенологическими и гистологическими исследованиями (Hokugo A. et al., 2005). Обогащенный тромбоцитами фибриновый клей с успехом был применен для ускорения приживления имплантатов в клинике и для лечения экспериментальных периимплантитов (Колесников И.С., 2006; Майбородин И.В. и др., 2007а, 2008б, 2009б; You T.M. et al., 2007а, 2007б; Lee H.J. et al., 2007). Определенные перспективы имеет совместное применение препаратов фибрина, мезенхимальных стволовых клеток и обогащенной тромбоцитами плазмы (Ito K. et al., 2006).

Скорость заживления ран, плотность новообразованной костной ткани в дефектах кости намного выше при добавлении в схему лечения методик, основанных на концентрации тромбоцитов (Anitua E., 2006; Kawase T. et al., 2005а, 2005б; Anitua E. et al., 2005, 2006а, 2006б; Hokugo A. et al., 2005). Альтернативой применения фибриновых клеев также может являться тромбоцитарный гель (Whitman D.H. et al., 1997).

Эндотелиоциты, также стимулированные к миграции фибрином (Anitua E., 2006; Anitua E. et al., 2006а, 2006б; Schmidt M.B. et al., 2006; Kaijzel E.L. et al., 2006; Schwartz-Arad D. et al., 2007), более быстро начинают процессы ангиогенеза (Kellouche S. et al., 2007) и вновь образованные сосуды располагаются не только в грануляциях по дну раны, но и в объеме фибриновой сети. Более быстрый рост сосудов в свою очередь облегчает миграцию лейкоцитов из сосудистого русла и синтез компонентов соединительной ткани.

Таким образом применение БТФС способствует более быстрой регенерации поврежденного участка кости нижней челюсти.

После заполнения отверстия в кости АПСККП через 1 неделю в месте хирургического вмешательства были обнаружены грануляции и отдельные островки молодой костной ткани. То есть состояние тканей в дефекте кости на этот срок практически соответствует контролю, однако, следует отметить значительно большее число кровеносных сосудов в структурах, заполняющих

отверстие в кости, в том числе и в грануляциях.

На 2 неделе после введения АПСККП в участок повреждения отверстие в кости нижней челюсти было полностью замещено слившимися островками молодой костной ткани или хрящевой тканью (множество слившихся островков) с большим содержанием полнокровных тонкостенных кровеносных сосудов. Необходимо отметить формирование структур красного костного мозга уже на этот срок. То есть к этому времени наблюдали резкое ускорение процессов, приведшее к быстрому развитию или регенерации в костной мозоли гемопоэтической структуры – костного мозга.

На последующие сроки происходило дальнейшее слияние островков костной ткани с последующим формированием костной мозоли и прогрессирующее восстановление красного костного мозга.

Таким образом, введение АПСККП непосредственно в участок повреждения кости у крыс приводит к ускорению репаративных процессов, начиная со 2 недели. Кроме того, отмечено резкое увеличение числа и размеров кровеносных сосудов как в грануляциях в месте операции, так и в участках соединительной ткани между формирующимися островками молодой кости по мере заполнения ими всего дефекта. Также АПСККП способствуют более раннему восстановлению красного костного мозга в месте повреждения кости.

Согласно литературным данным, мезенхимальные стромальные (стволовые) клетки формируют строму костного мозга, а гемопоэтические стволовые клетки участвуют в регенерации красного костного мозга. Поэтому не происходит образования костного мозга при введении только гемопоэтических клеток в различные участки тела (Patt H.M., Maloney M.A., 1975). Однако, в последнее время появились данные о возможности трансдифференцировки гематопоэтических клеток костного мозга в тканеспецифичные стволовые клетки и обратно (Ratajczak M.Z. et al., 2004).

Введение в моделях на грызунах суспензии ПСК и деминерализованного костного матрикса в пустую костномозговую полость трубчатой кости привело к образованию трабекул и стромы, поддерживающей гематопоэз (Gurevitch O.

et al., 2003). После применения графта из композиции гидроксиапатита и коллагенового геля с ПСК для замещения средней трети бедренной кости у кроликов, кроме формирования новой костной ткани с постепенной биодеградацией искусственного материала, были найдены структуры костного мозга (Chang S.H. et al., 2010).

При естественном ходе процессов регенерации поврежденной кости нижней челюсти восстановление дефекта начинается с его краев, откуда остеобласты и стволовые клетки, которые есть в самой кости (Neumann K. et al., 2008; Steenhuis P. et al., 2009) и надкостнице (Wakitani S., Yamamoto T., 2002; Hayashi O. et al., 2008; Zhang X. et al., 2008), мигрируют в кровяной сгусток. За счет их функионирования и появляются отдельные изолированные очаги остеогенеза в кровяном сгустке в дефекте кости через 1 неделю после операции.

После введения АПСККП, они сразу и в большом количестве появляются во всем объеме искусственно созданного отверстия в кости. То есть в данном случае не происходит затрат времени на миграцию стволовых клеток к самому участку травмы и на проникновение их непосредственно в дефект тканей.

Так как в данном эксперименте были использованы ПСК костномозгового происхождения, не исключено присутствие среди них небольшого числа гемопоэтических клеток. Видимо, за счет действия этих клеточных элементов и объясняется быстрая и ранняя регенерация гемопоэтической структуры - красного костного мозга. Необходимо еще раз отметить возможность трансдифференцировки АПСККП в гемопоэтические стволовые клетки (Ratajczak M.Z. et al., 2004).

По результатам денситометрии дефекта кости нижней челюсти крыс после применения АПСККП было обнаружено, что плотность тканей статистически значимо отличалась от здоровой кости на 2 и 5 неделях. При этом спустя 5 недель после операции плотность кости в дефекте на фоне применения АПСККП была меньше, чем при естественном ходе репаративного процесса.

В эксперименте на крысах инбредной линии Wistar-Kyoto

деминерализованный костный матрикс без клеток или с ПСК вводили в дефект боковой части черепа. Применение ПСК сопровождалось усилением ангиогенеза и остеогенеза в поврежденной зоне, результатом этого явилось полное восстановление кости. Кроме того, использование ПСК привело к супрессии воспалительной реакции (Кругляков П.В. и др., 2005).

Подобные результаты были получены при лечении дефектов черепа минисвиней. Применение ПСК ($5x10^7$/мл) способствовало более быстрой регенерации дефекта (2,15 $см^2$ против 0,54 $см^2$ в контрольном участке) по данным 3-хмерной компьютерной томографии. Прочность молодой кости к сдавлению была сравнимой с таковой в нормальных участках (80,536 ± 19,302 MPa против 88,646 ± 5,121 MPa в контроле) (Chang S.C. et al., 2003).

Регенерация костной ткани после ксенотрансплантации суспензии ПСК человека или хондробластов была изучена на крысах с повреждениями обеих бедренных костей. Не было найдено признаков иммунологических реакций и других патологических изменений. Было обнаружено ускорение регенерации костей в период с 10 по 30 сутки, относительно контрольной группы. Имплантация ПСК более значительно стимулирует репаративный остеогенез, по сравнению с применением хондробластов, что главным образом ассоциировано с ускорением созревания костных пластинок. Кроме того было найдено, что введение суспензии ПСК с одной стороны стимулирует регенерацию тканей контралатеральной конечности. Сформированная костная ткань полностью интегрируется в окружающую кость и полностью ремоделируется (Фатхудинов Т.Х. и др., 2005).

На 8 неделе после применения ПСК для лечения переломов предплечья (лучевая кость) у мышей эластичность новой костной ткани соответствовала таковой интактной кости. Регенерирующая кость характеризуется меньшим объемом, но возрастанием минеральной плотности. Осевая прочность элементов, восстановленных с использованием ПСК, на сроки в 10 и 35 недель была в 1,5-2 раза выше по сравнению с контралатеральными неповрежденными костями (Kallai I. et al., 2010).

Плотность костной ткани при дистракционном остеосинтезе в эксперименте была больше после использования ПСК, там раньше и более интенсивно образуется костная ткань, тогда как в контроле присутствуют большие островки хрящевой ткани (Shao Z. et al., 2007; Jiang X. et al., 2010).

Лечение некроза головки бедренной кости с применением ПСК было применено для лечения 3 пациентов, использовали внешнюю фиксацию. Получены очень обнадеживающие результаты, прослеженные в течение более, чем 3 лет (Cancedda R. et al., 2003).

На основании приведенных данных литературы мы ожидали ускорения регенерации поврежденной кости и, соответственно, большей ее плотности, по сравнению с результатами денситометрии челюсти при естественном течении репаративных процессов (Yamasaki T. et al., 2008; Jiang X. et al., 2010; Kallai I. et al., 2010; Kumar S. et al., 2010; Chang S.H. et al., 2010; Zhang Z.Y. et al., 2010).

Скорее всего, падение плотности в очаге по данным денситометрии на 2 и 5 неделях после операции связано с развитием красного костного мозга. На 1 неделе идет активное развитие кости и было отмечено повышение плотности костной ткани, далее формируется красный костный мозг, который расположен в полостях и, соответственно, плотность падает. После введения ПСК костный мозг образуется быстрее и более выражено, поэтому более значительно уменьшается плотность костной ткани в участке повреждения и становится даже ниже, чем при заживлении без использования клеток. Следует учитывать возможность снижения прочностных свойств восстановленной кости из-за присутствия больших полостей, заполненных костным мозгом.

После применения БТФС с адсорбированными АПСККП уже через 1 неделю дефект кости нижней челюсти был на большом протяжении заполнен молодой сформированной костной тканью. Скорее всего, образование кости в этих случаях начинается с середины дефекта, а не только с краев. В участках дефекта, еще не заполненных костной тканью, присутствовали грануляции с большим числом кровеносных сосудов.

Спустя 2 недели после начала эксперимента дефект кости нижней

челюсти был полностью закрыт молодой костной тканью. На следующие сроки местонахождение искусственного отверстия можно было определить только предположительно по структурам костной мозоли.

Согласно литературным данным, хорошие результаты были получены при совместном применении ПСК и обогащенной тромбоцитами плазмы для ускорения регенерации костной ткани и остеоинтеграции имплантатов. Такая плазма сама поддерживает рост костной ткани и также служит матрицей для роста кости из ПСК (Pieri F. et al., 2009; Nair M.B. et al., 2009б; Yoshimi R. et al., 2009; Yamada Y. et al., 2010; Niemeyer P. et al., 2010a). Это основано на том, что цитокины мегакариоцитов влияют на дифференцировку ПСК, кроме того, взаимодействие тромбопоэтических структур и ПСК способствует эндохондральной оссификации (Sumiyoshi K. et al., 2010). ПСК с плазмой или тромбоцитами возможно доставлять в участки регенерируемых костных и хрящевых тканей инъекционным путем (Yoshimi R. et al., 2009). Модификацией обогащенной тромбоцитами плазмы являются фибриновые гели, клеи и губки, которые также с высокой эффективностью применяют совместно с ПСК (Pei M. et al., 2009; Ben-Ari A. et al., 2009; Park K.H. et al., 2009; Lucarelli E. et al., 2010).

Выделенные у собак ПСК в смеси с фибриновым клеем и recombinant human morphogenetic protein-2 инъецировали под кожу голым мышам. Образование кости было обнаружено на 12 неделе. Гистоморфометрический анализ показал, что подкожные узелки содержат 26,9 % вновь сформированной костной ткани после применения ПСК, 41,1 % костной ткани после использования ПСК из альвеолярной кости и 58,2 % – после введения периоссальных ПСК (Zhu S.J. et al., 2006).

ПСК были получены от трансгенных крыс с экспрессией GFP. Эти ПСК в смеси с фибриновым клеем вводили в остеохондральные дефекты диким крысам. Через 24 недели все дефекты были заполнены гиалиновым хрящом и субхондральной костью. GFP-позитивные клетки были найдены в восстановленных тканях, хотя и в значительно меньшем числе (Oshima Y. et al., 2005).

Изолированные из костного мозга АМСККМП, суспендированые в фибриновом клее, нанесли на поверхность хирургических имплантов и использовали в эксперименте на овцах. Радиологический метод показал большую площадь разрастания кости после использования ПСК через 2, 3 и 6 месяцев. Однако, гистологически не было найдено достоверных различий с контролем (19,833 ± 8,729 % и 8,667 ± 8,667 % площади контакта импланта с костью, соответственно) (Kalia P. et al., 2006).

Растущие ПСК вместе с формирующимся матриксом, выделенные из бедренной кости крысы, были фрагментированы, смешаны в шприце с фибриновым клеем, содержащим бета-трикальций фосфат и введены подкожно в область спины. Через 8 недель гистологическими методами было найдено формирование структур кости, которых не было в случае применения только фибринового клея или фосфата кальция (контроль). Также в таких участках был идентифицирован белок остеопонтин, важный для процессов образования кости (Yamada Y. et al., 2003).

После экстракции зубов в эксперименте на собаках через 1 месяц расширяли лунки до 10 мм. ПСК были получены из подвздошной кости и культивированы 4 недели. После установки дентальных имплантатов дефекты были одновременно закрыты фибрином; ПСК и фибрином; ПСК, фибрином и обогащенной тромбоцитами плазмой; только дефект (контроль). Исследовали площадь контакта между имплантом и костью через 2, 4 и 8 недель после имплантации. В контроле эти показатели составляли 17 %, 19 % и 29 %, соответственно, после применения фибрина – 20 %, 22 % и 25 %, соответственно, после фибрина с ПСК – 22 %, 32 % and 42 %, соответственно, после фибрина, плазмы и ПСК - 25 %, 49 % и 53 %, также соответственно (Ito K. et al., 2006).

Особое значение применение ПСК приобретает у больных, перенесших химиотерапию, например, в случаях остеосаркомы. Но в данном случае необходимо выделение клеток до воздействия цитостатиками. В эксперименте на крысах химиотерапия достоверно уменьшает скорость формирования

костной ткани, применение ПСК в комбинации с фибриновым клеем приводит к ускорению оссеообразования, даже относительно животных без химиотерапии и без использования ПСК (Lee O.K. et al., 2005). Эффективность применения ПСК после химиотерапии и облучения подтверждена и другими исследователями (Wang Z. et al., 2006; Müller I. et al., 2008; Espitalier F. et al., 2009). Однако, метотрексат выражено подавляет пролиферацию ПСК за счет блокады клеточного цикла в фазе S/G2 (Prochazka E. et al., 2010).

Скорее всего, после применения БТФС с адсорбированными АПСККП суммируется или даже потенцируется влияние и фибрина и клеточных технологий на репаративную регенерацию участка повреждения кости нижней челюсти. Стволовые клетки в фибриновом сгустке располагаются в объеме и более-менее равномерно выполняют весь дефект, эти клетки не мигрируют из места введения (активно или пассивно, как при введении АПСККП). Содержащиеся в БТФС цитокины, в частности факторы мегакариоцитов и тромбоцитов, стимулируют как пролиферативную активность, так и дифференцировку АПСККП в остеогенном направлении. Согласно данным литературы, цитокины мегакариоцитов влияют на дифференцировку ПСК, кроме того, взаимодействие тромбопоэтических структур и ПСК способствует эндохондральной оссификации (Sumiyoshi K. et al., 2010). Таким образом достигается максимально быстрое и успешное восстановление дефекта костной ткани.

Вместе с этим, не исключено, что сам фибрин или клеточные релизы, присутствующие в его составе, подавляют пролиферацию или дифференцировку гемопоэтических клеток, которые, несомненно, содержатся вместе с АПСККП. Возможна и супрессия трансдифференцировки АПСККП в гемопоэтическом направлении (Ratajczak M.Z. et al., 2004). В связи с этим не происходит ускоренного восстановления структур красного костного мозга, который появляется на те же сроки, что и при естественном ходе репарации. Однако, при таком медленном и постепенном развитии полостей с костным мозгом нет выраженного снижения костной плотности в участке повреждения

и, видимо, нет значительного уменьшения прочностных характеристик вновь образованной костной ткани.

По результатам изучения относительной площади и численной плотности сосудов на срезе участка повреждения кости нижней челюсти крыс при различных способах влияния на регенераторные процессы было найдено, что наиболее быстро возвращение к норме указанных показателей происходит у животных после применения БТФС с адсорбированными АПСККП, к концу времени наблюдения только в этой группе произошла нормализация васкуляризации дефекта костной ткани. На фоне применения БТФС и после использования БТФС с АПСККП на срок с 1 по 3 неделю численная плотность сосудов в поврежденной кости была статистически достоверно меньше, чем при естественном ходе регенерации и после введения АПСККП.

В результате исследования численной плотности клеточных элементов на срезе участка повреждения кости нижней челюсти крыс при различных способах влияния на регенераторные процессы также было обнаружено, что наиболее быстро возвращение к норме указанных показателей происходит у животных после применения БТФС с адсорбированными АПСККП. При естественном ходе репаративных процессов к концу времени наблюдения так и не произошла нормализация значения величины данного показателя. После использования БТФС или введения АПСККП количество клеток на единице площади среза к 5 неделе после операции соответствовало интактному контролю. И только после применения БТФС с АПСККП возвращение к норме было найдено уже через 4 недели. Кроме того, на фоне использования БТФС и после применения БТФС с АПСККП на срок в 1 и 2 недели численная плотность клеток в поврежденной кости была статистически достоверно меньше, чем при естественном ходе регенерации и после введения АПСККП.

Сразу после операции при естественном ходе репаративного процесса кровяной сгусток постепенно замещается сначала грануляциями, а потом молодой костной тканью. В грануляционной ткани очень много кровеносных сосудов, фибробластов, непосредственно участвующих в формировании этих

грануляций, и лейкоцитов, лизирующих как сам сгусток, так и тканевой детрит, оставшийся в дефекте кости после моделирования травмы. Поэтому в первые сроки после операции очень высоки значения показателей, характеризующих относительную площадь сосудов на срезе ткани, численную плотность сосудов и клеточных элементов на единицу площади среза. По мере заполнения дефекта островками молодой костной ткани и формирования костной мозоли количество сосудов и клеточных элементов быстро уменьшается, но даже к 5 неделе значения указанных показателей еще статистически достоверно отличались от интактного контроля.

Видимо, такая же картина наблюдается после введения в искусственно созданный дефект АПСККП. Так же образуются грануляции, характеризующиеся большим числом сосудов и клеток, так же происходит постепенная замена грануляций молодой костной тканью и костной мозолью. Однако, все эти процессы идут быстрее, чем при естественном заживлении, что и обусловливает несколько лучшие результаты. Вместе с этим, быстрое формирование полостей с красным костным мозгом приводит к некоторому возрастанию численности сосудов и количества клеточных элементов, что в свою очередь, замедляет нормализацию значений указанных показателей.

После применения БТФС и после использования БТФС с АПСККП дефект кости заполняется фибриновым сгустком, там не образуются (или образуются в значительно меньшем объеме – между краем дефекта и фибринового сгустка) грануляции. Поэтому даже уже на срок в 1 неделю после операции есть достоверные отличия выраженности васкуляризации и содержания клеточных элементов в этих группах от состояния при естественном течении репаративных процессов.

Постепенно и БТФС и БТФС с АПСККП лизируются лейкоцитами (Anitua E., 2006; Anitua E. et al., 2006a, 2006б; Schmidt M.B. et al., 2006; Schwartz-Arad D. et al., 2007) и быстро замещаются молодой костной тканью, и далее, костной мозолью (Pieri F. et al., 2009; Nair M.B. et al., 2009б; Pei M. et al., 2009; Ben-Ari A. et al., 2009; Park K.H. et al., 2009; Yoshimi R. et al., 2009;

Niemeyer P. et al., 2010a; Sumiyoshi K. et al., 2010; Lucarelli E. et al., 2010). Эти процессы идут гораздо быстрее, чем при самостоятельном заживлении. Но все-таки даже после применения БТФС не происходит возвращения к норме показателей численности сосудов к 5 неделе после операции. Только после использования БТФС с АПСККП в конце эксперимента (на 5 неделе) было найдено возвращение к исходному уровню показателей васкуляризации, а численная плотность клеточных элементов у животных этой группы не отличалась от контроля уже спустя 4 недели.

Можно заключить, что при естественном ходе регенерации происходит постепенное заживление и формирование костной мозоли, по данным денситометрии отмечено медленное и плавное возрастание плотности костной ткани в участке повреждения. После применения БТФС также происходит постепенное, но более быстрое, относительно естественной репарации, заживление дефекта кости нижней челюсти и формирование костной мозоли, на 4-5 неделях наблюдали незначительное падение плотности костной ткани, видимо, обусловленное формированием костного мозга.

На фоне введения АПСККП в качестве основного признака ускорения регенераторных процессов обратили внимание на более быстрое образование костного мозга, структуры которого были обнаружены уже спустя 2 недели после операции, тогда как в других группах костный мозг появлялся на 3-4 неделях.

В условиях использования БТФС с адсорбированными АПСККП для заполнения места повреждения кости были получены наилучшие результаты. Произошло значительное ускорение регенерации костного дефекта, практически за 1-2 недели у крыс отверстие кости нижней челюсти было заполнено молодой костной тканью. В этой группе экспериментальных животных также следует отметить несколько большее число кровеносных сосудов в формирующихся тканях, но это явление было выражено в меньшей степени, чем при применении АПСККП. Также в данной группе не было найдено ускорения процессов восстановления красного костного мозга, а

временное снижение плотности костной ткани на 4 неделе сменилось резким возрастанием значения данного показателя к следующему сроку. Следует отметить, что у животных этой группы была отмечена максимальная плотность кости в участке повреждения к окончанию времени наблюдения.

Отдельно еще раз рассмотрим процессы восстановления красного костного мозга. Наиболее рано структуры костного мозга появились в участке повреждения после применения АПСККП. Необходимо отметить, что на 4 неделе наблюдения после использования БТФС, введения АПСККП и применения БТФС с адсорбированными АПСККП плотность тканей в участке повреждения несколько снижается, что, наиболее вероятно, обусловлено развитием полостей с красным костным мозгом, причем после введения БТФС или АПСККП эти изменения прогрессируют до окончания эксперимента. Но здесь существует возможность снижения прочностных свойств восстановленной кости из-за присутствия больших полостей, заполненных костным мозгом.

ВЫВОДЫ

1. При повреждении кости нижней челюсти у крыс и спонтанном заживлении отверстие сразу после травмы заполняется кровью, где формируется кровяной сгусток. Через 1 неделю в дефекте кости начинается формирование отдельных островков молодой костной ткани. Через 2 недели отверстие в кости нижней челюсти полностью закрыто слившимися островками молодой костной ткани. На 3–4 неделе в костной мозоли на месте дефекта появляются структуры красного костного мозга. По данным денситометрии отмечено постепенное возрастание плотности костной ткани в участке повреждения до 92 % от нормы.

2. После применения БТФС отверстие в кости нижней челюсти раньше и интенсивнее заполняется островками костной ткани. Дефект кости нижней челюсти уже к 1-й неделе полностью замещен островками костной ткани. На 2-й неделе отмечены признаки формирования костной мозоли. К 3-й неделе образуются полости с красным костным мозгом. Денситометрические результаты статистически достоверно не отличаются от таковых интактной кости.

3. После заполнения искусственного отверстия в кости АПСККП происходит более быстрое (ко 2-й неделе) восстановление структур красного костного мозга. По результатам денситометрии было обнаружено, что спустя 5 недель после операции плотность кости в дефекте на фоне применения АПСККП была меньше, чем при естественном ходе репаративного процесса, это связано с прогрессивным развитием больших полостей, заполненных костным мозгом.

4. При использовании БТФС с адсорбированными АПСККП для замещения дефекта кости нижней челюсти через 1 неделю отверстие было до ¾ диаметра заполнено сформированной костной тканью. У животных этой группы максимально быстро возвращаются к исходному уровню численная плотность клеточных элементов, относительная площадь и количество сосудов

на единицу площади среза участка повреждения кости нижней челюсти. По результатам денситометрии отмечена максимальная плотность кости в дефекте к 5-й неделе наблюдения (нормализация в 70 % случаев).

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. В связи с тем что после применения БТФС с адсорбированными АПСККП в эксперименте на крысах происходит самая интенсивная регенерация дефекта кости нижней челюсти, целесообразно применение препаратов фибрина, приготовленных из аутологичной крови, совместно со аутологичными стволовыми клетками из костного мозга для ускорения репаративных процессов костных тканей в стоматологии, хирургии, травматологии и ортопедии.

2. При невозможности использования БТФС совместно с АПСККП вследствие недоступности стволовых клеток, этических предпочтений или требований закона, предпочтение должно быть отдано препаратам фибрина.

3. Так как после введения АПСККП происходит более интенсивное формирование красного костного мозга, возможно применение аутологичных стволовых клеток для восстановления кроветворения после воздействия противоопухолевых препаратов и ионизирующего излучения. Необходимо учитывать вероятность уменьшения прочностных свойств костных тканей после образования полостей с красным костным мозгом.

4. По данным денситометрии с получением точных численных результатов возможно слежение за процессами регенерации поврежденных костных тканей и определение эффективности воздействия на этот процесс различных методов.

5. Изменение количества сосудов и клеток в участке повреждения костной ткани позволяет оценивать скорость репарации и предсказывать сроки появления островков костной ткани, их слияния и формирования костной мозоли.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Автандилов Г.Г. Морфометрия в патологии / Г.Г. Автандилов. – М. : Медицина, 1973. – 248 с.

2. Автандилов Г.Г. Введение в количественную патологическую морфологию / Г.Г. Автандилов. – М.: Медицина, 1980. – 216 с.

3. Автандилов Г.Г. Системная стереометрия в изучении патологического процесса / Г.Г. Автандилов, Н.И. Яблучанский, В.Г. Губенко. – М.: Медицина, 1981. – 192 с.

4. Автандилов Г.Г. Системный стереометрический анализ ультраструктур клеток / Г.Г. Автандилов, В.П. Невзоров, О.Ф. Невзорова. – Кишинев: Штиница, 1984. – 168 с.

5. Автандилов Г.Г. Введение в количественную патологическую морфологию / Г. Г. Автандилов. – М.: Медицина, 2002. – 238 с.

6. Вейбель Э.Р. Морфометрия легких человека / Э.Р. Вейбель. – М.: Медицина, 1970. – 176 с.

7. Воложин А.И. Использование мезенхимальных стволовых клеток для активизации репаративных процессов костной ткани челюсти в эксперименте / А.И. Воложин, А.Ю. Васильев, Н.Н. Мальгинов // Стоматология. – 2010. – Т. 89. – № 1. – С. 10-14.

8. Глаголев А.А. Геометрические методы количественного анализа агрегатов под микроскопом / А.А. Глаголев. – Львов : Госгеолитиздат, 1941. – 263 с.

9. Горчаков В.Н. Морфологические методы исследования сосудистого русла / В.Н. Горчаков – Новосибирск : СО РАМН, 1997. – 440 с.

10. Елисеев В.Г. Основы гистологии и гистологической техники / В.Г. Елисеев, М.Я. Субботин, Ю.И. Афанасьев. – М. : Медицина, 1967. – 268 с.

11. Западнюк И.П. Лабораторные животные / И.П. Западнюк, В.И. Западнюк, Е.А. Захария. – Киев : Віща школа, 1983. – 383 с.

12. Катинас Г.С., Полонский Ю.З. К методике анализа количественных

показателей в цитологии / Г. С. Катинас, Ю.З. Полонский // Цитология. – 1970. – Т. 12. – № 3. – С. 399-403.

13. Ковынцев Д.Н. Регенерация поврежденной кости нижней челюсти и структурно-клеточные изменения субмандибулярных лимфатических узлов крыс при использовании аутологичного фибринового сгустка: дисс. ... канд. мед. наук: 14.03.02; 03.03.04 / Дмитрий Николаевич Ковынцев. – Новосибирск, 2010. – 169 с.

14. Ковынцев А.Н. Мезенхимальные стволовые клетки и регионарный лимфатический узел в процессе восстановления костной ткани нижней челюсти в эксперименте: дисс. ... канд. мед. наук : 03.03.04; 14.03.01 / Андрей Николаевич Ковынцев. – Новосибирск, 2011. – 143 с.

15. Колесников И.С. Морфологические изменения десны при дентальной имплантации с применением обогащенного тромбоцитами фибринового сгустка: дисс. … канд. мед. наук : 14.00.15; 03.00.25 / Иван Сергеевич Колесников. – Новосибирск, 2006. – 146 с

16. Кругляков П.В. Влияние сингенных мезенхимных стволовых клеток на восстановление костной ткани у крыс при имплантации деминерализованного костного матрикса / П.В. Кругляков, И.Б. Соколова, Н.Н. Зинькова // Цитология. – 2005. – Т. 47. – № 6. – С. 466-477.

17. Лейн-Петтер У. Обеспечение научных исследований лабораторными животными / У. Лейн-Петтер. – М : Медицина, 1964. – 194 с.

18. Лилли Р. Патогистологическая техника и практическая гистохимия / Лилли Р. – М. : Мир, 1969. – 648 с.

19. Майбородин И.В. Изменения групповых лимфоидных узелков и брыжеечных лимфатических узлов крыс после введения комплекса химиотерапевтических препаратов: сходство и различия реакции / И.В Майбородин, Д.Н. Струнки, В.И. Майбородина // Морфология. – 2007. – Т. 132. – № 5. – С. 68-73.

20. Майбородин И.В. Гранулематозное воспаление после применения препаратов фибрина / И.В. Майбородин, И.С. Колесников, Б.В. Шеплев //

Морфологические ведомости. – 2007. – № 3-4. – С. 116-118.

21. Майбородин И.В. Изменения групповых лимфоидных узелков и брыжеечных лимфатических узлов крыс после введения комплекса химиотерапевтических препаратов: сходство и различия реакции / И.В. Майбородин, Д.Н. Струнки, В.И. Майбородина // Морфология. – 2007. – Т. 132. – № 5. – С. 68-73.

22. Майбородин И.В. Лимфатические узлы крыс при остром воспалении и воздействии интерлейкина-2 / И.В. Майбородин, Д.В. Егоров, Е.И. Стрельцова // Морфологические ведомости. – 2008. – № 3-4. – С. 44-48.

23. Майбородин И.В. Применение фибрина и его препаратов в стоматологии / И.В. Майбородин, И.С. Колесников, Б.В. Шеплев // Стоматология. – 2008. – Т. 87. – № 6. – С. 75-77.

24. Майбородин И.В. Возрастно-половые особенности тканей десны в норме и при хроническом верхушечном периодонтите / И.В. Майбородин, В.В. Гаврилова, И.А. Колмакова // Стоматология. – 2009. – Т. 88. - № 2. – С. 29-33.

25. Майбородин И.В. Морфология подлежащих тканей десны после дентальной имплантации с применением препаратов фибрина / И.В. Майбородин, И.С. Колесников, Б.В. Шеплев // Стоматология. – 2009. – Т. 88. – № 1. – С. 9-13.

26. Непомнящих Л.М. Морфометрия и стереология гипертрофии сердца / Л.М. Непомнящих, Е.Л. Лушникова, Г.И. Непомнящих. – Новосибирск : Наука, 1986. –303 с.

27. Пирс Э. Гистохимия теоретическая и прикладная / Э. Пирс. – М. : Изд-во иностр. лит., 1962. –964 с.

28. Плохинский Н.А. Биометрия / Н.А. Плохинский. – М.: Изд-во Московского ун-та, 1970. – 368 с.

29. Рагимова Т.М. Структура десны и периодонта при лечении острого гнойного периостита челюсти одонтогенного генеза с применением фибринового сгустка: дисс. … канд. мед. наук : 14.00.21; 14.00.15 / Тамила Микаиловна Рагимова. – Новосибирск, 2009. – 146 с.

30. Саркисов Д.С. Микроскопическая техника: Руководство для врачей и лаборантов / Д.С. Саркисов, Ю.Л. Перов. – М. : Медицина, 1996. – 544 с.

31. Сахаров П.П. Лабораторные животные / П.П. Сахаров, А.И. Метелкин, Е.И. Гудкова. – М : Медгиз., 1952. – 316 с.

32. Фатхудинов Т.Х. Особенности репаративного остеогенеза при трансплантации мезенхимальных стволовых клеток / Т.Х. Фатхудинов, Д.В. Гольдштейн, А.А.Пулин // Бюлл. эксп. биол. и мед.– 2005. – Т. 140. – № 7. – С. 109-113.

33. Христолюбова Н.Б. Возможности применения стереологического анализа в изучении структурной организации клеток и тканей / Н.Б. Христолюбова, А.Г. Шилов // Применение стереологическнх методов в цитологии. – Новосибирск, 1974. – С. 54-62.

34. Шахламов В.А. Ультраструктура артериального и венозного отделов капилляров / В.А. Шахламов // Арх. анатом. гистол. и эмбриол. – 1967. – Т. 52. – № 1. – С. 24-31.

35. Шеплев Б.В. Микроциркуляция в десне при лечении острого гнойного периостита челюсти с применением фибринового сгустка / Б.В. Шеплев, И.С. Колесников, Т.М. Рагимова // Ангиология и сосудистая хирургия. – 2008. – Т. 14. – № 3, Приложение: Хирургические методы лечения аневризм брюшного отдела аорты: Диагностика и коррекция нарушений регионарного кровообращения и микроциркуляции в клинической практике. – С. 174-175.

36. Abukawa H. Reconstructing mandibular defects using autologous tissue-engineered tooth and bone constructs / H. Abukawa, W. Zhang, C.S. Young // J. Oral Maxillofac. Surg. – 2009. – Vol. 67. – № 2. – P. 335-347.

37. Akita S. Cranial bone defect healing is accelerated by mesenchymal stem cells induced by coadministration of bone morphogenetic protein-2 and basic fibroblast growth factor / S. Akita, M. Fukui, H. Nakagawa // Wound Repair Regen. – 2004. – Vol. 12. – № 2. – P. 252-259.

38. Alge D.L. Donor-matched comparison of dental pulp stem cells and bone marrow-derived mesenchymal stem cells in a rat model / D.L. Alge, D. Zhou,

L.L. Adams // J. Tissue Eng. Regen. Med. – 2010. – Vol. 4. – № 1. – P. 73-81.

39. An C. IGF-1 and BMP-2 induces differentiation of adipose-derived mesenchymal stem cells into chondrocytes-like cells / C. An, Y. Cheng, Q. Yuan // Ann. Biomed. Eng. – 2010. – Vol. 38. – № 4. – P. 1647-1654.

40. Anitua E. Plasma rich in growth factors: preliminary results of use in the preparation of future sites for implants/ E. Anitua // Int. J. Oral Maxillofac. Implants. – 1999. – Vol. 14. – № 4. – P. 529-535.

41. Anitua E. The use of plasma-rich growth factors (PRGF) in oral surgery / E. Anitua // Pract. Proced. Aesthet. Dent. – 2001. – Vol. 13. – № 6. – P. 487-493.

42. Anitua E. Autologous platelets as a source of proteins for healing and tissue regeneration / E. Anitua, I. Andia, B. Ardanza // Thromb. Haemost. – 2004. – Vol. 91. – № 1. – P. 4-15.

43. Anitua E. Autologous preparations rich in growth factors promote proliferation and induce VEGF and HGF production by human tendon cells in culture / E. Anitua, I. Andia, M. Sanchez // J. Orthop. Res. – 2005. – Vol. 23. – № 2. – P. 281-286.

44. Anitua E. Enhancement of osseointegration by generating a dynamic implant surface / E. Anitua // J. Oral. Implantol. – 2006. – Vol. 32. – № 2. – P. 72-76.

45. Anitua E. New insights into and novel applications for platelet-rich fibrin therapies / E. Anitua, M. Sanchez, A.T. Nurden // Trends Biotechnol. – 2006. – Vol. 24. – № 5. – P. 227-234.

46. Anitua E. Autologous fibrin matrices: a potential source of biological mediators that modulate tendon cell activities / E. Anitua, M. Sanchez, A.T. Nurden // J. Biomed. Mater. Res. A. – 2006. – Vol. 77. – № 2. – P. 285-293.

47. Anitua E. The potential impact of the preparation rich in growth factors (PRGF) in different medical fields / E. Anitua, M. Sanchez, G. Orive // Biomaterials. – 2007. – Vol. 28. – № 31. – P. 4551-4560.

48. Arinzeh T.L. Allogeneic mesenchymal stem cells regenerate bone in a critical-sized canine segmental defect / T.L. Arinzeh, S.J. Peter, M.P. Archambault // J. Bone Joint Surg. Am. – 2003. – Vol. 85-A. – № 10. – P. 1927-1935.

49. Arpornmaeklong P. Phenotypic characterization, osteoblastic differentiation, and bone regeneration capacity of human embryonic stem cell-derived mesenchymal stem cells / P. Arpornmaeklong, S.E. Brown, Z. Wang // Stem Cells Dev. – 2009. – Vol. 18. – № 7. – P. 955-968.

50. Bal B.S. In vivo outcomes of tissue-engineered osteochondral grafts / B.S. Bal, M.N. Rahaman, P. Jayabalan // J. Biomed. Mater. Res. B Appl. Biomater. – 2010. – Vol. 93. – № 1. – P. 164-174.

51. Becker W. Fibrin sealants in implant and periodontal treatment: case presentati-ons / W. Becker // Compend. Contin. Educ. Dent. – 2005. – Vol. 26. – № 8. – P. 539-545.

52. Behnia H. Secondary repair of alveolar clefts using human mesenchymal stem cells / H. Behnia, A. Khojasteh, M. Soleimani // Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod. – 2009. – Vol. 108. – № 2. – P. e1-e6.

53. Ben-Ari A. Isolation and implantation of bone marrow-derived mesenchymal stem cells with fibrin micro beads to repair a critical-size bone defect in mice / A. Ben-Ari, R. Rivkin, M. Frishman // Tissue. Eng. Part A. – 2009. – Vol. 15. – № 9. – P. 2537-2546.

54. Berner A. Reconstruction of osteochondral defects with a stem cell-based cartilage-polymer construct in a small animal model / A. Berner, S. Siebenlist, J.C. Reichert // Z. Orthop. Unfall. – 2010. – Vol. 148. – № 1. – P. 31-38.

55. Breitbart E.A. Mesenchymal stem cells accelerate bone allograft incorporation in the presence of diabetes mellitus / E.A. Breitbart, S. Meade, V. Azad // J. Orthop. Res. – 2010. – Vol. 28. – № 7. – P. 942-949.

56. Bueno D.F. New source of muscle-derived stem cells with potential for alveolar bone reconstruction in cleft lip and/or palate patients / D.F. Bueno, I. Kerkis, A.M. Costa // Tissue Eng. Part A. – 2009. – Vol. 15. – № 2. – P. 427-435.

57. Burastero G. The association of human mesenchymal stem cells with BMP-7 improves bone regeneration of critical-size segmental bone defects in athymic rats / G. Burastero, S. Scarfì, C. Ferraris // Bone. – 2010. – Vol. 47. – № 1. – P. 117-126.

58. Cancedda R. Bone marrow stromal cells and their use in regenerating bone

/ R. Cancedda, M. Mastrogiacomo, G. Bianchi // Novartis Found Symp. – 2003. – Vol. 249. – P. 133-143; discussion 143-147, 170-174, 239-241.

59. Caplan A.I. Adult mesenchymal stem cells for tissue engineering versus regenerative medicine / A.I. Caplan // J. Cell. Physiol. – 2007. – Vol. 213. – № 2. – P. 341-347.

60. Caplan A.I. New era of cell-based orthopedic therapies / A.I. Caplan // Tissue Eng. Part B Rev. – 2009. – Vol. 15. – № 2. – P. 195-200.

61. Carmagnola D. Bone healing around implants placed in a jaw defect augmented with Bio-Oss. An experimental study in dogs / D. Carmagnola, T. Berglundh, M. Araujo // J. Clin. Periodontol. – 2000. – Vol. 27. – № 11. – P. 799-805.

62. Carter G. Local haemostasis with autologous fibrin glue following surgical enucleation of a large cystic lesion in a therapeutically anticoagulated patient / G. Carter, A.N. Goss, J. Lloyd // Br. J. Oral Maxillofac. Surg. – 2003. – Vol. 41. – № 4. – P. 275-276.

63. Carter G. Tranexamic acid mouthwash versus autologous fibrin glue in patients taking warfarin undergoing dental extractions: a randomized prospective clinical study / G. Carter, A. Goss, J. Lloyd // J. Oral Maxillofac. Surg. – 2003. – Vol. 61. – № 12. – P. 1432-1435.

64. Chai G. Repair alveolar cleft bone defects with bone marrow stromal cells / G. Chai, Y. Zhang, X.J. Hu // Zhonghua Zheng Xing Wai Ke Za Zhi. – 2006. – Vol. 22. – № 6. – P. 409-411.

65. Champa Jayasuriya A. Mesenchymal stem cell function on hybrid organic/inorganic microparticles in vitro / A. Champa Jayasuriya, A. Bhat // J. Tissue Eng. Regen. Med. – 2010. – Vol. 4. – № 5. – P. 340-348.

66. Chanda D. Therapeutic potential of adult bone marrow-derived mesenchymal stem cells in diseases of the skeleton / D. Chanda, S. Kumar, S. Ponnazhagan // J. Cell. Biochem. – 2010. – Vol. 111. – № 2. – P. 249-257.

67. Chang S.C. Ex vivo gene therapy in autologous critical-size craniofacial bone regeneration / S.C. Chang, F.C. Wei, H. Chuang // Plast. Reconstr. Surg. – 2003. – Vol. 112. – № 7. – P. 1841-1850.

68. Chang S.H. Fabrication of vascularized bone grafts of predetermined shape with hydroxyapatite-collagen gel beads and autogenous mesenchymal stem cell composites / S.H. Chang, K.Y. Tung, Y.J. Wang // Plast. Reconstr. Surg. – 2010. – Vol. 125. – № 5. – P. 1393-1402.

69. Charbord P. Bone marrow mesenchymal stem cells : historical overview and concepts / P. Charbord // Hum. Gene Ther. – 2010. – Epub ahead of print.

70. Cheng M.T. Isolation and characterization of multipotent stem cells from human cruciate ligaments / M.T. Cheng, H.W. Yang, T.H Chen // Cell. Prolif. – 2009. – Vol. 42. – № 4. – P. 448-460.

71. Chevallier N. Osteoblastic differentiation of human mesenchymal stem cells with platelet lysate / N. Chevallier, F. Anagnostou, S. Zilber // Biomaterials. – 2010. – Vol. 31. – № 2. – P. 270-278.

72. Choi B.H. The use of autologous fibrin glue for closing sinus membrane perforations during inus lifts / B.H. Choi, S.J. Zhu, J.H. Jung // Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod. – 2006. – Vol. 101. – № 2. – P. 150-154.

73. Choukroun J. Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part IV: clinical effects on tissue healing / J. Choukroun, A. Diss, A. Simonpieri // Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod. – 2006. – Vol. 101. – № 3. – P. e56-e60.

74. Choukroun J. Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part V: histologic evaluations of PRF effects on bone allograft maturation in sinus lift / J. Choukroun, A. Diss, A. Simonpieri // Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod. – 2006. – Vol. 101. – № 3. – P. 299-303.

75. Chuang C.K. Xenotransplantation of human mesenchymal stem cells into immunocompetent rats for calvarial bone repair / C.K. Chuang, K.J. Lin, C.Y. Lin // Tissue Eng. Part A. – 2010. – Vol. 16. – № 2. – P. 479-488.

76. Chuansumrit A. Treatment of haemophilia in the developing countries / A. Chuansumrit // Haemophilia. – 2003. – Vol. 9. – № 4. – P. 387-390.

77. Chung I.H. Stem cell property of postmigratory cranial neural crest cells and their utility in alveolar bone regeneration and tooth development / I.H. Chung,

T. Yamaza, H. Zhao // Stem Cells. – 2009. – Vol. 27. – № 4. – P. 866-877.

78. Chung S.I. Affects of F XIII in wound-healing - Fibrin stability in tissues and cross linking of angiogenesis modulator, osteonectin to fibrin / S.I. Chung, S.Y. Lee, U. Ryogin // Rinsho Byori. – 1997. – Suppl. – Vol. 104. – P. 50.

79. Clines G.A. Prospects for osteoprogenitor stem cells in fracture repair and osteoporosis / G.A. Clines // Curr. Opin. Organ. Transplant. – 2010. – Vol. 15. – № 1. – P. 73-78.

80. Coipeau P. Impaired differentiation potential of human trabecular bone mesenchymal stromal cells from elderly patients / P. Coipeau, P. Rosset, A. Langonne // Cytotherapy. – 2009. – Vol. 11. – № 5. – P. 584-594.

81. Colm S.J. The use of a fibrin sealant to control intraoperative bleeding during a Le Fort I osteotomy: report of a case / S.J. Colm // J. Oral Maxillofac. Surg. – 1996. – Vol. 54. – № 8. – P. 1014-1016.

82. Cortellini P. Guided tissue regeneration procedure using a fibrin-fibronectin system in surgically induced recession in dogs / P. Cortellini, M. DeSanctis, G. Pini Prato // Int. J. Periodontics Restorative Dent. – 1991. – Vol. 11. – № 2. – P. 150-163.

83. Cortellini P. No detrimental effect of fibrin glue on the regeneration of intrabony defects. A controlled clinical trial / P. Cortellini, G.P. Pini Prato, M.S. Tonetti // J. Clin. Periodontol. – 1995. – Vol. 22. – № 9. – P. 697-702.

84. David J.P. Mesenchymal stem cells in arthritis / J.P. David, J. Zwerina, G. Schett // Z. Rheumatol. – 2009. – Vol. 68. – № 3. – P. 228-233.

85. Dehne T. Regenerative potential of human adult precursor cells: cell therapy – an option for treating cartilage defects? / T. Dehne, M. Tschirschmann, R. Lauster // Z. Rheumatol. – 2009. – Vol. 68. – № 3. – P. 234-238.

86. Dohan D.M. Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part I: technological concepts and evolution / D.M. Dohan, J. Choukroun, A. Diss // Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod. – 2006. – Vol. 101. – № 3. – P.e37-e44.

87. Dohan D.M. Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet

concentrate. Part II: platelet-related biologic features / D.M. Dohan, J. Choukroun, A. Diss // Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod. – 2006. – Vol. 101. – № 3. – P. e45-e50.

88. Dohan D.M. Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part III: leucocyte activation: a new feature for platelet concentrates? / D.M. Dohan, J. Choukroun, A. Diss // Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod. – 2006. – Vol. 101. – № 3. – P. e51-e55.

89. Dvorak H.F. Cellular and vascular manifestations of cell-mediated immunity / H.F. Dvorak, S.J. Galli, A.M. Dvorak // Hum. Pathol. – 1986. – Vol. 17. – № 2. – P. 122-137.

90. Espitalier F. A comparison between bone reconstruction following the use of mesenchymal stem cells and total bone marrow in association with calcium phosphate scaffold in irradiated bone / F. Espitalier, C. Vinatier, E. Lerouxel // Biomaterials. – 2009. – Vol. 30. – № 5. – P. 763-769.

91. Fabris G. Effects of a fibrin-fibronectin sealing system on proliferation and type I collagen synthesis of human PDL fibroblasts in vitro / G. Fabris, L. Trombelli, G.P. Schincaglia // J. Clin. Periodontol. – 1998. – Vol. 25. – № 1. – P. 11-14.

92. Fan J. Synovium-derived mesenchymal stem cells: a new cell source for musculoskeletal regeneration / J. Fan, R.R. Varshney, L. Ren // Tissue Eng. Part B Rev. – 2009. – Vol. 15. – № 1. – P. 75-86.

93. Federici A.B. Optimising local therapy during oral surgery in patients with von Willebrand disease: effective results from a retrospective analysis of 63 cases / A.B. Federici, R. Sacco, F. Stabile // Haemophilia. – 2000. – Vol. 6. – № 2. – P. 71-77.

94. Feng F. Utility of PDL progenitors for in vivo tissue regeneration: a report of 3 cases / F. Feng, K. Akiyama, Y. Liu // Oral Dis. – 2010. – Vol. 16. – № 1. – P. 20-28.

95. Fernandes H. Effect of chordin-like 1 on MC3T3-E1 and human mesenchymal stem cells / H. Fernandes, K. Dechering, E. Someren van // Cells Tissues Organs. – 2010. – Vol. 191. – № 6. – P. 443-452.

96. Freitas I. Stroma formation in Ehrlich carcinoma. I. Oedema phase. A

mitosis burst as an index of physiological reoxygenation? / I. Freitas, G.F. Baronzio, V. Bertone // Anticancer Res. – 1991. – Vol. 11. – № 2. – P. 569-578.

97. Froum S.J. Effect of platelet-rich plasma on bone growth and osseointegration in human maxillary sinus grafts: three bilateral case reports / S.J. Froum, S.S. Wallace, D.P. Tarnow // Int. J. Periodontics Restorative Dent. – 2002. – Vol. 22. – № 1. – P. 45-53.

98. Fu K. Prolonged osteogenesis from human mesenchymal stem cells implanted in immunodeficient mice by using coralline hydroxyapatite incorporating rhBMP2 microspheres / K. Fu, Q. Xu, J. Czernuszka // J. Biomed. Mater. Res. A. – 2010. – Vol. 92. – № 4. – P. 1256-1264.

99. Fuerst G. Effects of fibrin sealant protein concentrate with and without platelet-released growth factors on bony healing of cortical mandibular defects. An experimental study in minipigs / G. Fuerst, R. Gruber, S. Tangl // Clin. Oral Implants Res. – 2004. – Vol. 15. – № 3. – P. 301-307.

100. Fukui M. Ectopic bone formation facilitated by human mesenchymal stem cells and osteogenic cytokines via nutrient vessel injection in a nude rat model / M. Fukui, S. Akita, K. Akino // Wound Repair Regen. – 2005. – Vol. 13. – № 3. – P. 332-340.

101. Galle J. Mesenchymal stem cells in cartilage repair: state of the art and methods to monitor cell growth, differentiation and cartilage regeneration / J. Galle, A. Bader, P. Hepp // Curr. Med. Chem. – 2010. Epub ahead of print.

102. Gazit D. Engineered pluripotent mesenchymal cells integrate and differentiate in regenerating bone: a novel cell-mediated gene therapy / D. Gazit, G. Turgeman, P. Kelley // J. Gene Med. – 1999. – Vol. 1. – № 2. – P. 121-133.

103. Ge Z. Hydroxyapatite-chitin materials as potential tissue engineered bone substitutes / Z. Ge, S. Baguenard, L.Y. Lim // Biomaterials. – 2004. – Vol. 25. – № 6. – P. 1049-1058.

104. Gentleman E. Comparative materials differences revealed in engineered bone as a function of cell-specific differentiation / E. Gentleman, R.J. Swain, N.D. Evans // Nat. Mater. – 2009. – Vol. 8. – № 9. – P. 763-770.

105. Goepfert C. Cartilage engineering from mesenchymal stem cells / C. Goepfert, A. Slobodianski, A.F. Schilling // Adv. Biochem. Eng. Biotechnol. – 2010. Epub ahead of print.

106. Goldschlager T. Potential applications for using stem cells in spine surgery / T. Goldschlager, G. Jenkin, P. Ghosh // Curr. Stem Cell. Res. Ther. – 2010. – Vol. 123. – P. 163-200.

107. Granchi D. Gene expression patterns related to osteogenic differentiation of bone marrow-derived mesenchymal stem cells during ex vivo expansion / D. Granchi, G. Ochoa, E. Leonard // Tissue Eng. Part C Methods. – 2010. – Vol. 16. – № 3. – P. 511-524.

108. Gravel M. Responses of mesenchymal stem cell to chitosan-coralline composites microstructured using coralline as gas forming agent / M. Gravel, Gross T., R. Vago // Biomaterials. – 2006. – Vol. 27. – № 9. – P. 1899-1906.

109. Gregory E.W. Experimental use of fibrin sealant for skin graft fixation in mandibular vestibuloplasty / E.W. Gregory, S.J. Schaberg // J. Oral Maxillofac. Surg. – 1986. – Vol. 44. – № 3. – P. 171-176.

110. Gurevitch O. Reconstruction of cartilage, bone, and hematopoietic microenvironment with demineralized bone matrix and bone marrow cells / O. Gurevitch, B.G. Kurkalli, T. Prigozhina // Stem Cells. – 2003. – Vol. 21. – № 5. – P. 588-597.

111. Halfpenny W. Comparison of 2 hemostatic agents for the prevention of postextraction hemorrhage in patients on anticoagulants / W. Halfpenny, J.S. Fraser, D.M. Adlam // Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod. – 2001. – Vol. 92. – № 3. – P. 257-259.

112. Hamidouche Z. Autocrine fibroblast growth factor 18 mediates dexamethasone-induced osteogenic differentiation of murine mesenchymal stem cells / Z. Hamidouche, O. Fromigué, U. Nuber // J. Cell. Physiol. – 2010. – Vol. 224. – № 2. – P. 509-515.

113. Haroon Z.A. Tissue transglutaminase is expressed, active, and directly involved in rat dermal wound healing and angiogenesis/ Z.A. Haroon, J.M. Hettasch,

T.S. Lai // FASEB J. – 1999. – Vol. 13. – № 13. – P. 1787-1795.

114. Harris C.T. Comparison of bone graft matrices for human mesenchymal stem cell-directed osteogenesis / C.T. Harris, L.F. Cooper // J. Biomed. Mater. Res. A. – 2004. – Vol. 68. – № 4. – P. 747-755.

115. Hayashi O. Comparison of osteogenic ability of rat mesenchymal stem cells from bone marrow, periosteum, and adipose tissue / O. Hayashi, Y. Katsube, M. Hirose // Calcif. Tissue Int. – 2008. – Vol. 82. – № 3. – P. 238-247.

116. Head J.R. Jr. Lymphatic vessels in the uterine endometrium of virgin rats / J.R. Head, L.L. Seeling // J. Reprod. Immunol. – 1984. – Vol. 6. – № 3. – P. 157-166.

117. Heng B.C. Transplanted human embryonic stem cells as biological “catalysts” for tissue repair and regeneration / B.C. Heng, H. Liu, T. Cao // Med. Hypotheses. – 2005. – Vol. 64. – № 6. – P. 1085-1088.

118. Heng B.C. Utilising human embryonic stem cells as "catalysts" for biological repair and regeneration. Challenges and some possible strategies / B.C. Heng, H. Liu, T. Cao // Clin. Exp. Med. – 2005. – Vol. 5. – № 1. – P. 37-39.

119. Ho S.T. The evaluation of a biphasic osteochondral implant coupled with an electrospun membrane in a large animal model / S.T. Ho, D.W. Hutmacher, A.K. Ekaputra // Tissue Eng. Part A. – 2010. – Vol. 16. – № 4. – P. 1123-1141.

120. Hokugo A. Augmented bone regeneration activity of platelet-rich plasma by biodegradable gelatin hydrogel / A. Hokugo, M. Ozeki, O. Kawakami // Tissue Eng. – 2005. – Vol. 11. – № 7-8. – P. 1224-1233.

121. Holzwarth C. Low physiologic oxygen tensions reduce proliferation and differentiation of human multipotent mesenchymal stromal cells / C. Holzwarth, M. Vaegler, F. Gieseke // BMC Cell. Biol. – 2010. – Vol. 11. – P. 11.

122. Hong D. Genetically engineered mesenchymal stem cells: The ongoing research for bone tissue engineering / D. Hong, H.X. Chen, R. Ge // Anat. Rec. (Hoboken). – 2010. – Vol. 293. – № 3. – P. 531-537.

123. Hou R. Experimental study on repair of critical-sized cranial defect by tissue engineered bone / R. Hou, T. Mao, Y. Yang // Zhongguo Xiu Fu Chong Jian

Wai Ke Za Zhi. – 2005. – Vol. 19. – № 10. – P. 818-821.

124. Hsieh J.Y. Functional module analysis reveals differential osteogenic and stemness potentials in human mesenchymal stem cells from bone marrow and Wharton's jelly of umbilical cord / J.Y. Hsieh, Y.S. Fu, S.J. Chang // Stem Cells Dev. – 2010. – Vol. 19. – № 12. – P. 1895-1910.

125. Hu J. Response of human embryonic stem cells derived mesenchymal stem cells to osteogenic factors and architectures of materials during in vitro osteogenesis / J. Hu, L.A. Smith, K. Feng // Tissue Eng. Part A. – 2010. – Vol. 16. – № 11. – P. 3507-3514.

126. Huang G.T. Mesenchymal stem cells derived from dental tissues vs. those from other sources: their biology and role in regenerative medicine / G.T. Huang, S. Gronthos, S. Shi // J. Dent. Res. – 2009. – Vol. 88. – № 9. – P. 792-806.

127. Ito K. Simultaneous implant placement and bone regeneration around dental implants using tissue-engineered bone with fibrin glue, mesenchymal stem cells and platelet-rich plasma / K. Ito, Y. Yamada, T. Naiki // Clin. Oral Implants Res. – 2006. – Vol. 17. – № 5. – P. 579-586.

128. Jackson M.R. Fibrin sealants in surgical practice: An overview / M.R. Jackson // Am. J. Surg. – 2001. – Vol. 182. – № 2. – Suppl. – P. 1S-7S.

129. Jäger M. Bone healing and migration of cord blood-derived stem cells into a critical size femoral defect after xenotransplantation / M. Jäger, O. Degistirici, A. Knipper // J. Bone Miner. Res. – 2007. – Vol. 22. – № 8. – P. 1224-1233.

130. Jäger M. Antigen expression of cord blood derived stem cells under osteogenic stimulation in vitro / M. Jäger, R. Krauspe // Cell. Biol. Int. – 2007. – Vol. 31. – № 9. – P. 950-957.

131. Jäger M. Bone marrow concentrate: a novel strategy for bone defect treatment / M. Jäger, E.M. Jelinek, K.M. Wess // Curr. Stem Cell. Res. Ther. – 2009. – Vol. 4. – № 1. – P. 34-43.

132. Ji Y.H. Quantitative proteomics analysis of chondrogenic differentiation of C3H10T1/2 mesenchymal stem cells by iTRAQ labeling coupled with on-line two-

dimensional LC/MS/MS / Y.H. Ji, J.L. Ji, F.Y. Sun // Mol. Cell. Proteomics. – 2010. – Vol. 9. – № 3. – P. 550-564.

133. Jiang X. bFGF-Modified BMMSCs enhance bone regeneration following distraction osteogenesis in rabbits / X. Jiang, S. Zou, B. Ye // Bone. – 2010. – Vol. 46. – № 4. – P. 1156-1161.

134. Kaijzel E.L. Molecular weight fibrinogen variants determine angiogenesis rate in a fibrin matrix in vitro and in vivo /E.L. Kaijzel, P. Koolwijk, M.G. Erck van // J. Thromb. Haemost. – 2006. – Vol. 4. – № 9. – P. 1975-1981.

135. Kalia P. Do autologous mesenchymal stem cells augment bone growth and contact to massive bone tumor implants? / P. Kalia, G.W. Blunn, J. Miller // Tissue Eng. – 2006. – Vol. 12. – № 6. – P. 1617-1626.

136. Kallai I. Quantitative, structural, and image-based mechanical analysis of nonunion fracture repaired by genetically engineered mesenchymal stem cells / I. Kallai, G.H. Lenthe van, D. Ruffoni // J. Biomech. – 2010. – Vol. 43. – № 12. – P. 2315-2320.

137. Kang J.M. Enhancement of in vivo bone regeneration efficacy of osteogenically undifferentiated human cord blood mesenchymal stem cells / J.M. Kang, S.W. Kang, W.G. La // J. Biomed. Mater. Res. A. – 2010. – Vol. 93. – № 2. – P. 666-672.

138. Kastrinaki M.C. Mesenchymal stromal cells in rheumatoid arthritis: biological properties and clinical applications / M.C. Kastrinaki, H.A. Papadaki // Curr. Stem Cell. Res. Ther. – 2009. – Vol. 4. – № 1. – P. 61-69.

139. Kawaguchi H. Enhancement of periodontal tissue regeneration by transplantation of bone marrow mesenchymal stem cells / H. Kawaguchi, A. Hirachi, N. Hasegawa // J. Periodontol. – 2004. – Vol. 75. – № 9. – P. 1281-1287.

140. Kawaguchi H. Cell transplantation for periodontal diseases. A novel periodontal tissue regenerative therapy using bone marrow mesenchymal stem cells / H. Kawaguchi, H. Hayashi, N. Mizuno // Clin. Calcium. – 2005. – Vol. 15. – № 7. – P. 99-104.

141. Kawaguchi H. Clinical trial of periodontal tissue regeneration /

H. Kawaguchi, H. Kurihara // Nippon Rinsho. – 2008. – Vol. 66. – № 5. - P. 948-954.

142. Kawase T. Platelet-rich plasma-derived fibrin clot formation stimulates collagen synthesis in periodontal ligament and osteoblastic cells in vitro / T. Kawase, K. Okuda, L.F. Wolff // J. Periodontol. – 2003. – Vol. 74. – № 6. – P. 858-864.

143. Kawase T. Platelet-rich plasma provides nucleus for mineralization in cultures of partially differentiated periodontal ligament cells / T. Kawase , K. Okuda, Y. Saito // In Vitro Cell. Dev. Biol. Anim. – 2005. – Vol. 41. – № 5. – P. 171-176.

144. Kawase T. In vitro evidence that the biological effects of platelet-rich plasma on periodontal ligament cells is not mediated solely by constituent transforming-growth factor-beta or platelet-derived growth factor / T. Kawase, K. Okuda, Y. Saito // J. Periodontol. – 2005. – Vol. 76. – № 5. – P. 760-767.

145. Kellouche S., Mourah S., Bonnefoy A. Platelets, thrombospondin-1 and human dermal fibroblasts cooperate for stimulation of endothelial cell tubulogenesis through VEGF and PAI-1 regulation / S. Kellouche, S. Mourah, A. Bonnefoy // Exp. Cell. Res. – 2007. – Vol. 313. – № 3. – P. 486-499.

146. Kim E.S. Platelet concentration and its effect on bone formation in calvarial defects: an experimental study in rabbits / E.S. Kim, E.J. Park, P.H. Choung // J. Prosthet. Dent. – 2001. – Vol. 86. – № 4. – P. 428-433.

147. Koelling S. Stem cell therapy for cartilage regeneration in osteoarthritis / S. Koelling, N. Miosge // Expert. Opin. Biol. Ther. – 2009. – Vol. 9. – № 11. – P. 1399-1405.

148. Kok de I.J. Investigation of allogeneic mesenchymal stem cell-based alveolar bone formation: preliminary findings / I.J. Kok de, S.J. Peter, M. Archambault // Clin. Oral. Implants Res. – 2003. – Vol. 14. – № 4. – P. 481-489.

149. Kok de I.J. Evaluation of mesenchymal stem cells following implantation in alveolar sockets: a canine safety study / I.J. Kok de, S.J. Drapeau, R. Young // Int. J. Oral Maxillofac. Implants. – 2005. – Vol. 20. – № 4. – P. 511-518.

150. Komatsu F. Utility and quality of autologous fresh frozen plasma and autologous fibrin glue for surgical patients / F. Komatsu, S. Yoshida // Transfus. Sci. – 1999. – Vol. 21. – № 2. – P. 105-109.

151. Komatsu F. Large volume apheresis of autologous plasma and preparation of autologous fibrin glue from the plasma / F. Komatsu, S. Yoshida // Ther. Apher. – 2001. – Vol. 5. – № 1. – P. 12-16.

152. Korecki C.L. Notochordal cell conditioned medium stimulates mesenchymal stem cell differentiation toward a young nucleus pulposus phenotype / C.L. Korecki, J.M. Taboas, R.S. Tuan // Stem Cell. Res. Ther. – 2010. – Vol. 1. – № 2. – P. 18.

153. Kovacs B. Bioplast fibrin coagulum in large cystic defects of the jaw / B. Kovacs, G. Kerenyi // Int. J. Oral Surg. – 1976. – Vol. 5. – № 3. – P. 111-116.

154. Kumar S. Therapeutic potential of genetically modified adult stem cells for osteopenia / S. Kumar, T.R. Nagy, S. Ponnazhagan // Gene Ther. – 2010. – Vol. 17. – № 1. – P. 105-116.

155. Laidmae I. Stability, sterility, coagulation, and immunologic studies of salmon coagulation proteins with potential use for mammalian wound healing and cell engineering / I. Laidmae, M.E. McCormick, J.L. Herod // Biomaterials. – 2006. – Vol. 27. – № 34. – P. 5771-5779.

156. Laino G. An approachable human adult stem cell source for hard-tissue engineering / G. Laino, A. Graziano, R. d'Aquino // J. Cell. Physiol. – 2006. – Vol. 206. – № 3. – P. 693-701.

157. Lange C. Accelerated and safe expansion of human mesenchymal stromal cells in animal serum-free medium for transplantation and regenerative medicine / C. Lange, F. Cakiroglu, A.N. Spiess // J. Cell. Physiol. – 2007. – Vol. 213. – № 1. – P. 18-26.

158. Laurens N. Fibrin structure and wound healing / N. Laurens, P. Koolwijk, Maat de M.P. // J. Thromb. Haemost. – 2006. – Vol. 4. – № 5. – P. 932-939.

159. Lee H.J. Maxillary sinus floor augmentation using autogenous bone grafts and platelet-enriched fibrin glue with simultaneous implant placement / H.J. Lee, B.H. Choi, J.H. Jung // Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod. – 2007. – Vol. 103. – № 3. – P. 329-333.

160. Lee J.S. Modular peptides promote human mesenchymal stem cell

differentiation on biomaterial surfaces / J.S. Lee, J.S. Lee, W.L. Murphy // Acta Biomater. – 2010. – Vol. 6. – № 1. – P. 21-28.

161. Lee O.K. Use of mesenchymal stem cells to facilitate bone regeneration in normal and chemotherapy-treated rats / O.K. Lee, M.J. Coathup, A.E. Goodship // Tissue Eng. – 2005. – Vol. 11. – № 11-12. – P. 1727-1735.

162. Lee S.J. Enhancement of bone regeneration by gene delivery of BMP2/Runx2 bicistronic vector into adipose-derived stromal cells /S.J. Lee, S.W. Kang, H.J. Do // Biomaterials. – 2010. – Vol. 31. – № 21. – P. 5652-5659.

163. Lekovic V. The use of bovine porous bone mineral in combination with enamel matrix proteins or with an autologous fibrinogen/fibronectin system in the treatment of intrabony periodontal defects in humans / V. Lekovic, P.M. Camargo, M. Weinlaender // J. Periodontol. – 2001. – Vol. 72. – № 9. – P. 1157-1163.

164. Li H. Application of autologous cryopreserved bone marrow mesenchymal stem cells for periodontal regeneration in dogs / H. Li, F. Yan, L. Lei // Cells Tissues Organs. – 2009. – Vol. 190. – № 2. – P. 94-101.

165. Li X. Chemical characteristics and cytocompatibility of collagen-based scaffold reinforced by chitin fibers for bone tissue engineering / X. Li, Q. Feng, W. Wang // J. Biomed. Mater. Res. B. Appl. Biomater. – 2006. – Vol. 77. – № 2. – P. 219-226.

166. Lindskog S. Fibrinogen and IgG in the hyaline zone in man after orthodontic movement / S. Lindskog, E. Lilja // Scand. J. Dent. Res. – 1983. – Vol. 91. – № 2. – P. 156-158.

167. Liu G. In vitro and in vivo evaluation of osteogenesis of human umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cells on partially demineralized bone matrix / G. Liu, Y. Li, J. Sun // Tissue Eng. Part A. – 2010. – Vol. 16. – № 3. – P. 971-982.

168. Liu M. Repairing defects of rabbit articular cartilage and subchondral bone with biphasic scaffold combined bone marrow stromal stem cells / M. Liu, Z. Xiang, F. Pei // Zhongguo Xiu Fu Chong Jian Wai Ke Za Zhi. – 2010. – Vol. 24. – № 1. – P. 87-93.

169. Liu Z.J. Trafficking and differentiation of mesenchymal stem cells / Z.J. Liu, Y. Zhuge, O.C. Velazquez // J. Cell. Biochem. – 2009. – Vol. 106. – № 6. – P. 984-991.

170. London R.M. Histologic comparison of a thermal dual-etched implant surface to machined, TPS, and HA surfaces: bone contact in vivo in rabbits / R.M. London, F.A. Roberts, D.A. Baker // Int. J. Oral Maxillofac. Implants. – 2002. – Vol. 17. – № 3. – P. 369-376.

171. Lucarelli E. A recently developed bifacial platelet-rich fibrin matrix / E. Lucarelli // Eur. Cell. Mater. – 2010. – Vol. 20. – P. 13-23.

172. Maiborodin I. Experimental results of the fibrin clot use to accelerate the regeneration of damaged bone in the rat lower jaw / I. Maiborodin, A. Shevela, T. Perrin // Surgical Science. – 2010. – Vol. 1. – № 1. – P. 1-6. DOI: 10.4236/ss.2010.11001

173. Malafaya b P.P. Chitosan particles agglomerated scaffolds for cartilage and osteochondral tissue engineering approaches with adipose tissue derived stem cells / P.P. Malafaya b, A.J. Pedro, A. Peterbauer // J. Mater. Sci. Mater. Med. – 2005. – Vol. 16. – № 12. – P. 1077-1085.

174. Mankad P.S. The role of fibrin sealants in hemostasis / P.S. Mankad, M. Codispoti // Am. J. Surg. – 2001. – Vol. 182. – № 2. – Suppl. – P. 21S-28S.

175. Mansilla E. Bloodstream cells phenotypically identical to human mesenchymal bone marrow stem cells circulate in large amounts under the influence of acute large skin damage: new evidence for their use in regenerative medicine / E. Mansilla, G.H. Marín, H. Drago // Transplant. Proc. – 2006. – Vol. 38. – № 3. – P. 967-969.

176. Mantesso A. Dental stem cells for tooth regeneration and repair / A. Mantesso, P. Sharpe // Expert. Opin. Biol. Ther. – 2009. – Vol. 9. – № 9. – P. 1143-1154.

177. Marei M.K. Experimental formation of periodontal structure around titanium implants utilizing bone marrow mesenchymal stem cells: a pilot study / M.K. Marei, M.M. Saad, A.M. El-Ashwah // J. Oral Implantol. – 2009. – Vol. 35. –

№ 3. – P. 106-129.

178. Martins A.A. Quantification and immunophenotypic characterization of bone marrow and umbilical cord blood mesenchymal stem cells by multicolor flow cytometry / A.A. Martins, A. Paiva, J.M. Morgado // Transplant. Proc. –2009. – Vol. 41. – № 3. – P. 943-946.

179. Martins A.M. Natural stimulus responsive scaffolds/cells for bone tissue engineering: influence of lysozyme upon scaffold degradation and osteogenic differentiation of cultured marrow stromal cells induced by CaP coatings / A.M. Martins, Q.P. Pham, P.B. Malafaya // Tissue Eng. Part A. – 2009. – Vol. 15. – № 8. – P. 1953-1963.

180. McAllister B.S. Histologic evaluation of a stem cell-based sinus-augmentation procedure / B.S. McAllister, K. Haghighat, A. Gonshor // J. Periodontol. – 2009. – Vol. 80. – № 4. – P. 679-686.

181. McDougall S. Fibroblast migration and collagen deposition during dermal wound healing: mathematical modelling and clinical implications / S. McDougall, J. Dallon, J. Sherratt // Philos Transact. A Math. Phys. Eng. Sci. – 2006. – Vol. 364. – № 1843. – P. 1385-1405.

182. Meijer H.J. Radiographic evaluation of mandibular augmentation with prefabricated hydroxylapatite/fibrin glue implants / H.J. Meijer, W.H. Steen, F. Bosman // J. Oral Maxillofac. Surg. – 1997. – Vol. 55. – № 2. – P. 138-145.

183. Menabde G. Bone marrow-derived mesenchymal stem cell plasticity and their application perspectives / G. Menabde, K. Gogilashvili, Z. Kakabadze // Georgian Med. News. – 2009. – № 167. – P. 71-76.

184. Moller J.F. Efficacy of a fibrin sealant on healing of extraction wounds / J.F. Moller, J.K. Petersen // Int. J. Oral Maxillofac. Surg. – 1988. – Vol. 17. – № 2. – P. 142-144.

185. Morsczeck C. Transcriptomes and proteomes of dental follicle cells / C. Morsczeck, G. Schmalz // J. Dent. Res. – 2010. – Vol. 89. – № 5. – P. 445-456.

186. Mrozik K.M. Proteomic characterization of mesenchymal stem cell-like populations derived from ovine periodontal ligament, dental pulp and bone marrow:

analysis of differentially expressed proteins / K.M. Mrozik, P.S. Zilm, C. Bagley // Stem Cells Dev. – 2010. – Vol. 19. – № 10. – P. 1485-1499.

187. Müller I. Secretion of angiogenic proteins by human multipotent mesenchymal stromal cells and their clinical potential in the treatment of avascular osteonecrosis / I. Müller, M. Vaegler, C. Holzwarth // Leukemia. – 2008. – Vol. 22. – № 11. – P. 2054-2061.

188. Nair M.B. Triphasic ceramic coated hydroxyapatite as a niche for goat stem cell-derived osteoblasts for bone regeneration and repair / M.B. Nair, H.K. Varma, A. John // J. Mater. Sci. Mater. Med. – 2009. – Vol. 20. – Suppl. – P. S251-S258.

189. Nair M.B. Reconstruction of goat femur segmental defects using triphasic ceramic-coated hydroxyapatite in combination with autologous cells and platelet-rich plasma / M.B. Nair, H.K. Varma, K.V. Menon // Acta Biomater. – 2009. – Vol. 5. – № 5. – P. 1742-1755.

190. Nair M.B. Tissue regeneration and repair of goat segmental femur defect with bioactive triphasic ceramic-coated hydroxyapatite scaffold / M.B. Nair, H.K. Varma, K.V. Menon // J. Biomed. Mater. Res. A. – 2009. – Vol. 91. – № 3. – P. 855-865.

191. Nandakumar A. Calcium phosphate coated electrospun fiber matrices as scaffolds for bone tissue engineering / A. Nandakumar, L. Yang, P. Habibovic // Langmuir. – 2010. – Vol. 26. – № 10. – P. 7380-7387.

192. Nedel F. Stem cells: therapeutic potential in dentistry / F. Nedel, D.A. André de, I.O. Oliveira de // J. Contemp. Dent. Pract. – 2009. – Vol. 10. – № 4. – P. 90-96.

193. Neumann K. Chondrogenic differentiation capacity of human mesenchymal progenitor cells derived from subchondral cortico-spongious bone / K. Neumann, T. Dehne, M. Endres // J. Orthop. Res. – 2008. – Vol. 26. – № 11. – P. 1449-1456.

194. Niemeyer P. Comparison of mesenchymal stem cells from bone marrow and adipose tissue for bone regeneration in a critical size defect of the sheep tibia and

the influence of platelet-rich plasma / P. Niemeyer, K. Fechner, S. Milz // Biomaterials. – 2010. – Vol. 31. – № 13. – P. 3572-3579.

195. Niemeyer P. Xenogenic transplantation of human mesenchymal stem cells in a critical size defect of the sheep tibia for bone regeneration / P. Niemeyer, T.S. Schönberger, J. Hahn // Tissue Eng. Part A. – 2010. – Vol. 16. – № 1. - P. 33-43.

196. Niemeyer P. Transplantation of human mesenchymal stem cells in a non-autogenous setting for bone regeneration in a rabbit critical-size defect model / P. Niemeyer, K. Szalay, R. Luginbühl // Acta Biomater. – 2010. – Vol. 6. – № 3. – P. 900-908.

197. Oberg S. Combined use of hydroxy-apatite and Tisseel in experimental bone defects in the rabbit / S. Oberg, K.E. Kahnberg // Swed. Dent. J. – 1993. – Vol. 17. – № 4. – P. 147-153.

198. Ockenfels H.M. Allergy to fibrin tissue in dental medicine / H.M. Ockenfels, U. Seemann, M. Goos // Contact Dermatitis. – 1995. – Vol. 32. – № 6. – P. 363-364.

199. O'Connell N. Recombinant factor VIIa in the management of surgery and acute bleeding episodes in children with haemophilia and high responding inhibitors / N. O'Connell, C. McMahon, J. Smith // Br. J. Haematol. – 2002. – Vol. 116. – № 3. – P. 632-635.

200. Oortgiesen D.A. Fenestration defects in the rabbit jaw: an inadequate model for studying periodontal regeneration / D.A. Oortgiesen, G.J. Meijer, A.L. Bronckers // Tissue Eng. Part C. Methods. – 2010. – Vol. 16. – № 1. – P. 133-140.

201. Orciani M. Nitric oxide production during the osteogenic differentiation of human periodontal ligament mesenchymal stem cells / M. Orciani, O. Trubiani, A. Vignini // Acta Histochem. – 2009. – Vol. 111. – № 1. – P. 15-24.

202. Oshima Y. Behavior of transplanted bone marrow-derived GFP mesenchymal cells in osteochondral defect as a simulation of autologous transplantation / Y. Oshima, N. Watanabe, K. Matsuda // J. Histochem. Cytochem. – 2005. – Vol. 53. – № 2. – P. 207-216.

203. Ou X.R. An investigation of restoration of alveolar cleft with

engineered bone / X.R. Ou, X.C. Jian, G. Lin // Zhonghua Zheng Xing Wai Ke Za Zhi. – 2007. – Vol. 23. – № 1. – P. 29-31.

204. Padovan L.E. Fibrin adhesive implant in wound healing repair of dental sockets with topical application of epsilon aminocaproic acid: histological analysis / L.E. Padovan, T. Okamoto, M.C. Rezende // J. Biomed. Mater. Res. B Appl. Biomater. – 2005. – Vol. 73. – № 2. – P. 209-213.

205. Panetta N.J. Mesenchymal cells for skeletal tissue engineering / N.J. Panetta, D.M. Gupta, N. Quarto // Panminerva Med. – 2009. – Vol. 51. – № 1. – P. 25-41.

206. Park K.H. Synthetic matrix containing glucocorticoid and growth factor for chondrogenic differentiation of stem cells / K.H. Park, W. Park, K. Na // J. Biosci. Bioeng. – 2009. – Vol. 108. – № 2. – P. 168-173.

207. Park S.H. Relationships between degradability of silk scaffolds and osteogenesis / S.H. Park, E.S. Gil, H.J. Kim // Biomaterials. – 2010. – Vol. 31. – № 24. – P. 6162-6172.

208. Patlolla A. Solvent-dependent properties of electrospun fibrous composites for bone tissue regeneration / A. Patlolla, G. Collins, T.L. Arinzeh // Acta Biomater. – 2010. – Vol. 6. – № 1. – P. 90-101.

209. Patt H.M. Bone marrow regeneration after local injury: a review / H.M. Patt, M.A. Maloney // Exp. Hematol. – 1975. – Vol. 3. – № 2. – P. 135-148.

210. Pei M. Repair of full-thickness femoral condyle cartilage defects using allogeneic synovial cell-engineered tissue constructs / M. Pei, F. He, B.M. Boyce // Osteoarthritis Cartilage. – 2009. – Vol. 17. – № 6. – P. 714-722.

211. Peppo de G.M. Osteogenic potential of human mesenchymal stem cells and human embryonic stem cell-derived mesodermal progenitors: a tissue engineering perspective / Peppo de G.M., P. Sjovall, M. Lennerås // Tissue Eng. Part. A. – 2010. Epub ahead of print.

212. Isolation of pig bone marrow mesenchymal stem cells suitable for one-step procedures in chondrogenic regeneration / A. Peterbauer-Scherb, M. Griensven van, A. Meinl // J. Tissue Eng. Regen. Med. – 2010. – Vol. 4. – № 6. – P. 485-490.

213. Phillips A.M. Overview of the fracture healing cascade / A.M. Phillips // Injury. – 2005. – Vol. 36. – Suppl 3. – P. S5-S7.

214. Pieri F. Mesenchymal stem cells and platelet-rich plasma enhance bone formation in sinus grafting: a histomorphometric study in minipigs / F. Pieri, E. Lucarelli, G. Corinaldesi // J. Clin. Periodontol. – 2008. – Vol. 35. – № 6. – P. 539-546.

215. Poncelet A.J. Cellular xenotransplantation / A.J. Poncelet, D. Denis, P. Gianello // Curr. Opin. Organ Transplant. – 2009. – Vol. 14. – № 2. – P. 168-174.

216. Poncelet A.J. Cellular xenotransplantation / A.J. Poncelet, D. Denis, P. Gianello // Curr. Opin. Organ Transplant. – 2009. – Vol. 14. – № 2. – P. 168-174.

217. Pop M., Pop A., Dinca C. Unele rezultate ale coafajului experimental cu substante biologice al pulpei dentare la ciine / M. Pop, A. Pop, C. Dinca // Stomatologia (Bucur). – 1969. – Vol. 16. – № 5. – P. 397-403.

218. Prochazka E. Methotrexate released in vitro from bone cement inhibits human stem cell proliferation in S/G2 phase / E. Prochazka, T. Soukup, M. Hroch // Int. Orthop. – 2010. – Vol. 34. – № 1. – P. 137-142.

219. Ratajczak M.Z. Stem cell plasticity revisited: CXCR4-positive cells expressing mRNA for early muscle, liver and neural cells 'hide out' in the bone marrow / M.Z. Ratajczak, M. Kucia, R. Reca // Leukemia. – 2004. – Vol. 18. – № 1. – P. 29-40.

220. Re S. Orthodontic movement into bone defects augmented with bovine bone mineral and fibrin sealer: a reentry case report / S. Re, G. Corrente, R. Abundo // Int. J. Periodontics Restorative Dent. – 2002. – Vol. 22. – № 2. – P. 138-145.

221. Ren W.H. Induction of reparative dentin formation in dogs with combined recombinant human bone morphogenetic protein 2 and fibrin sealant / W.H. Ren, L.J. Yang, S.Z. Dong // Chin. J. Dent. Res. – 1999. – Vol. 3. – № 3-4. – P. 21-24.

222. Ren W. The effect of fibrin sealant on dental pulp for pulp capping in experimental dogs / W. Ren, L. Yang, X. Chen // Hua Xi Kou Qiang Yi Xue Za Zhi. – 2000. – Vol. 18. – № 6. – P. 380-382.

223. Ren W. The effects of the complex of rhBMP2 and fibrin sealant on

dental pulp / W. Ren, L. Yang, S. Dong // Zhonghua Kou Qiang Yi Xue Za Zhi. – 2000. – Vol. 35. – № 1. – P. 18-20.

224. Richter W. Mesenchymal stem cells and cartilage in situ regeneration / W. Richter // J. Intern. Med. – 2009. – Vol. 266. – № 4. – P. 390-405.

225. Rimondini L. Stem cell technologies for tissue regeneration in dentistry / L. Rimondini, S. Mele // Minerva Stomatol. – 2009. – Vol. 58. – № 10. – P. 483-500.

226. Ripamonti U. Patterns of healing on replanted baboon incisors coated with an allogeneic fibrin-fibronectin protein concentrate / U. Ripamonti, J.C. Petit // J. Periodontal Res. – 1989. – Vol. 24. – № 5. – P. 335-342.

227. Robinson D. Implants composed of carbon fiber mesh and bone-marrow-derived, chondrocyte-enriched cultures for joint surface reconstruction / D. Robinson, M. Efrat, D.G. Mendes // Bull. Hosp. Jt. Dis. – 1993. – Vol. 53. – № 1. – P. 75-82.

228. Romanos G.E. Effect of Tissucol on connective tissue matrix during wound healing: an immunohistochemical study in rat skin / G.E. Romanos, J.R. Strub // J. Biomed. Mater. Res. – 1998. – Vol. 39. – № 3. – P. 462-468.

229. Sae-Lim V. The effect of basic fibroblast growth factor on delayed-replanted monkey teeth / V. Sae-Lim, W.Y. Ong, Z. Li // J. Periodontol. – 2004. – Vol. 75. – № 12. – P. 1570-1578.

230. Salerno A. Design of novel three-phase PCL/TZ-HA biomaterials for use in bone regeneration applications / A. Salerno, M. Oliviero, E. Maio di // J. Mater. Sci. Mater. Med. – 2010. Epub ahead of print.

231. Salvadè A. GMP-grade preparation of biomimetic scaffolds with osteo-differentiated autologous mesenchymal stromal cells for the treatment of alveolar bone resorption in periodontal disease / A. Salvadè, D. Belotti, E. Donzelli // Cytotherapy. – 2007. – Vol. 9. – № 5. – P. 427-438.

232. Sanchez A.R. Is platelet-rich plasma the perfect enhancement factor? A current review / A.R. Sanchez, P.J. Sheridan, L.I. Kupp // Int. J. Oral Maxillofac. Implants. – 2003. – Vol. 18. – № 1. – P. 93-103.

233. Sanchez M. Plasma rich in growth factors to treat an articular cartilage

avulsion: a case report / M. Sanchez, J. Azofra, E. Anitua // Med. Sci. Sports Exerc. – 2003. – Vol. 35. – № 10. – P. 1648-1652.

234. Sanchez M. Comparison of surgically repaired Achilles tendon tears using platelet-rich fibrin matrices / M. Sanchez, E. Anitua, J. Azofra // Am. J. Sports Med. – 2007. – Vol. 35. – № 2. – P. 245-251.

235. Sauerbier S. In vivo comparison of hard tissue regeneration with human mesenchymal stem cells processed with either the FICOLL method or the BMAC method / S. Sauerbier, A. Stricker, J. Kuschnierz // Tissue Eng. Part C Methods. – 2010. – Vol. 16. – № 2. – P. 215-223.

236. Schmidt M.B. A review of the effects of insulin-like growth factor and platelet derived growth factor on in vivo cartilage healing and repair / M.B. Schmidt, E.H. Chen, S.E. Lynch // Osteoarthritis Cartilage. – 2006. – Vol. 14. – № 5. – P. 403-412.

237. Schneider R.K. The osteogenic differentiation of adult bone marrow and perinatal umbilical mesenchymal stem cells and matrix remodelling in three-dimensional collagen scaffolds / R.K. Schneider, A. Puellen, R. Kramann // Biomaterials. – 2010. – Vol. 31. – № 3. – P. 467-480.

238. Schuh E. Bone substitutes for serious progressive periodontal disease by use of the fibrin-bonding system / E. Schuh, F. Braun, W. Kovac // Osterr. Z. Stomatol. – 1978. – Vol. 75. – № 11. – P. 411-420.

239. Schwartz-Arad D. The use of platelet rich plasma (PRP) and platelet rich fibrin (PRP) extracts in dental implantology and oral surgery / D. Schwartz-Arad, L. Levin, M. Aba // Refuat Hapeh Vehashinayim. – 2007. – Vol. 24. – № 1. – P. 51-55, 84.

240. Seebach C. Endothelial progenitor cells and mesenchymal stem cells seeded onto beta-TCP granules enhance early vascularization and bone healing in a critical-sized bone defect in rats / C. Seebach, D. Henrich, C. Kähling // Tissue Eng. Part A. – 2010. – Vol. 16. – № 6. – P. 1961-1970.

241. Seebach C. Comparison of six bone-graft substitutes regarding to cell seeding efficiency, metabolism and growth behaviour of human mesenchymal stem cells (MSC) in vitro / C. Seebach, J. Schultheiss, K. Wilhelm // Injury. – 2010. –

Vol. 41. – № 7. – P. 914-921.

242. Shao Z. Transplantation of osteoblast-like cells to the distracted callus in the rabbit mandible / Z. Shao, B. Liu, Q. Peng // Plast. Reconstr. Surg. – 2007. – Vol. 119. – № 2. – P. 500-507.

243. Shi X. In-vitro osteogenesis of synovium stem cells induced by controlled release of bisphosphate additives from microspherical mesoporous silica composite / X. Shi, Y. Wang, R.R. Varshney // Biomaterials. – 2009. – Vol. 30. – № 23-24. – P. 3996-4005.

244. Shi X. Microsphere-based drug releasing scaffolds for inducing osteogenesis of human mesenchymal stem cells in vitro / X.Shi, Y. Wang, R.R. Varshney // Eur. J. Pharm. Sci. – 2010. – Vol. 39. – № 1-3. – P. 59-67.

245. Shirai K. Multipotency of clonal cells derived from swine periodontal ligament and differential regulation by fibroblast growth factor and bone morphogenetic protein / K. Shirai, A. Ishisaki, T. Kaku // J. Periodontal. Res. – 2009. – Vol. 44. – № 2. – P. 238-247.

246. Shoji T. Local transplantation of human multipotent adipose-derived stem cells accelerates fracture healing via enhanced osteogenesis and angiogenesis / T. Shoji, M. Ii, Y. Mifune // Lab. Invest. – 2010. – Vol. 90. – № 4. – P. 637-649.

247. Singh S. Characterization of a mesenchymal-like stem cell population from osteophyte tissue / S. Singh, B.J. Jones, R. Crawford // Stem Cells Dev. – 2008. – Vol. 17. – № 2. – P. 245-254.

248. Smiler D. Toward the identification of mesenchymal stem cells in bone marrow and peripheral blood for bone regeneration / D. Smiler, M. Soltan, M. Albitar // Implant Dent. – 2008. – Vol. 17. – № 3. – P. 236-247.

249. Soffer E. Fibrin sealants and platelet preparations in bone and periodontal healing / E. Soffer, J.P. Ouhayoun, F. Anagnostou // Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod. – 2003. – Vol. 95. – № 5. – P. 521-528.

250. Song J.S. Differentiation and regenerative capacities of human odontoma-derived mesenchymal cells / J.S. Song, D. Stefanik, M. Damek-Poprawa // Differentiation. – 2009. – Vol. 77. – № 1. – P. 29-37.

251. Sonnleitner D. A simplified technique for producing platelet-rich plasma and platelet concentrate for intraoral bone grafting techniques: a technical note / D. Sonnleitner, P. Huemer, D.Y. Sullivan // Int. J. Oral Maxillofac. Implants. – 2000. – Vol. 15. – № 6. – P. 879-882.

252. Spotnitz W.D. Fibrin sealant tissue adhesive--review and update / W.D. Spotnitz, R. Prabhu // J. Long Term Eff. Med. Implants. – 2005. – Vol. 15. – № 3. – P. 245-270.

253. Steenhuis P. Jr. Osteogenic and adipogenic cell fractions isolated from postnatal mouse calvaria / P. Steenhuis, K.M. Carr, G.J. Pettway // Cells Tissues Organs. – 2009. – Vol. 190. – № 3. – P. 150-157.

254. Stephan S.J. Injectable tissue-engineered bone repair of a rat calvarial defect / S.J. Stephan, S.S. Tholpady, B. Gross // Laryngoscope. – 2010. – Vol. 120. – № 5. – P. 895-901.

255. Stiehler M. Cancellous bone allograft seeded with human mesenchymal stromal cells: a potential good manufacturing practice-grade tool for the regeneration of bone defects / M. Stiehler, F.P. Seib, J. Rauh // Cytotherapy. – 2010. – Vol. 12. – № 5. – P. 658-668

256. Sumiyoshi K. Thrombopoietic-mesenchymal interaction that may facilitate both endochondral ossification and platelet maturation via CCN2 / K. Sumiyoshi, S. Kubota, R.A. Furuta // J. Cell. Commun. Signal. – 2010. – Vol. 4. – № 1. – P. 5-14.

257. Sun H. Osteogenic differentiation of human amniotic fluid-derived stem cells induced by bone morphogenetic protein-7 and enhanced by nanofibrous scaffolds / H. Sun, K. Feng, J. Hu // Biomaterials. – 2010. – Vol. 31. – № 6. – P. 1133-1139.

258. Sun W. Effect of nano-hydroxyapatite collagen bone and marrow mesenchymal stem cell on treatment of rabbit osteonecrosis of the femoral head defect / W. Sun, Z. Li, Z. Shi // Zhongguo Xiu Fu Chong Jian Wai Ke Za Zhi. – 2005. – Vol. 19. – № 9. – P. 703-706.

259. Tallheden T. Phenotypic plasticity of human articular chondrocytes / T. Tallheden, J.E. Dennis, D.P. Lennon // J. Bone Joint Surg. Am. – 2003. – Vol. 85-

A. – Suppl 2. – P. 93-100.

260. Tamer el M.K. Tamer el M.K. Progenitor and stem cells for bone and cartilage regeneration / M.K. Tamer el, R.L. Reis // J. Tissue Eng. Regen. Med. – 2009. – Vol. 3. – № 5. – P. 327-337.

261. Tan Z. Research on promoting periodontal regeneration with human basic fibroblast growth factor-modified bone marrow mesenchymal stromal cell gene therapy / Z. Tan, Q. Zhao, P. Gong // Cytotherapy. – 2009. – Vol. 11. – № 3. – P. 317-325.

262. Tasso R. The recruitment of two consecutive and different waves of host stem/progenitor cells during the development of tissue-engineered bone in a murine model / R. Tasso, F. Fais, D. Reverberi // Biomaterials. – 2010. – Vol. 31. – № 8. – P. 2121-2129.

263. Tomar G.B. Human gingiva-derived mesenchymal stem cells are superior to bone marrow-derived mesenchymal stem cells for cell therapy in regenerative medicine / G.B. Tomar, R.K. Srivastava, N. Gupta // Biochem. Biophys. Res. Commun. – 2010. – Vol. 393. – № 3. – P. 377-383.

264. Trombelli L. Combined guided tissue regeneration, root conditioning, and fibrin-fibronectin system application in the treatment of gingival recession. A 15-case report / L. Trombelli, G. Schincaglia, L. Checchi // J. Periodontol. – 1994. – Vol. 65. – № 8. – P. 796-803.

265. Trombelli L. Healing response of human buccal gingival recessions treated with expanded polytetrafluoroethylene membranes. A retrospective report / L. Trombelli, G.P. Schincaglia, C. Scapoli // J. Periodontol. – 1995. – Vol. 66. – № 1. – P. 14-22.

266. Trombelli L. Effects of tetracycline HCl conditioning and fibrin-fibronectin system application in the treatment of buccal gingival recession with guided tissue regeneration / L. Trombelli, G.P. Schincaglia, F. Zangari // J. Periodontol. – 1995. – Vol. 66. – № 5. – P. 313-320.

267. Trombelli L. Clinical effect of tetracycline demineralization and fibrin-fibronectin sealing system application on healing response following flap

debridement surgery / L. Trombelli, A. Scabbia, C. Scapoli // J. Periodontol. – 1996. – Vol. 67. – № 7. – P. 688-693.

268. Trombelli L. Fibrin glue application in conjunction with tetracycline root conditioning and coronally positioned flap procedure in the treatment of human gingival recession defects / L. Trombelli, A. Scabbia, U.M. Wikesjo // J. Clin. Periodontol. – 1996. – Vol. 23. – № 9. – P. 861-867.

269. Tsai K.S. Type I collagen promotes proliferation and osteogenesis of human mesenchymal stem cells via activation of ERK and Akt pathways / K.S. Tsai, S.Y. Kao, C.Y. Wang // J. Biomed. Mater. Res. A. – 2010. – Vol. 94. – № 3. – P. 673-682.

270. Undale A.H. Mesenchymal stem cells for bone repair and metabolic bone diseases / A.H. Undale, J.J. Westendorf, M.J. Yaszemski // Mayo Clin. Proc. – 2009. – Vol. 84. – № 10. – P. 893-902.

271. Valbonesi M. Fibrin glues of human origin / M. Valbonesi // Best Pract. Res. Clin. Haematol. – 2006. – Vol. 19. – № 1. – P. 191-203.

272. Vinckier F. Wound healing following dental extractions in rabbits: effects of tranexamic acid, warfarin anti-coagulation, and socket packing / F. Vinckier, J. Vermylen // J. Dent. Res. – 1984. – Vol. 63. – № 5. – P. 646-649.

273. Voiculescu D. Contributii la tratamentul conservator al inflamatei pulpare coafajul cu subtante biologice / D. Voiculescu, M. Pop, A. Pop // Stomatologia (Bucur) . – 1968. – Vol. 15. – № 4. – P. 309-316.

274. Wakitani S. Response of the donor and recipient cells in mesenchymal cell transplantation to cartilage defect / S. Wakitani, T. Yamamoto // Microsc. Res. Tech. – 2002. – Vol. 58. – № 1. – P. 14-18.

275. Walsh C.J. Meniscus regeneration in a rabbit partial meniscectomy model / C.J. Walsh, D. Goodman, A.I. Caplan // Tissue Eng. – 1999. – Vol. 5. – № 4. – P. 327-337.

276. Wan C. Allogenic peripheral blood derived mesenchymal stem cells (MSCs) enhance bone regeneration in rabbit ulna critical-sized bone defect model / C. Wan, Q. He, G. Li // J. Orthop. Res. – 2006. – Vol. 24. – № 4. – P. 610-618.

277. Wang Y. In vitro osteogenesis of synovium mesenchymal cells induced by controlled release of alendronate and dexamethasone from a sintered microspherical scaffold / Y. Wang, X. Shi, L. Ren // J. Biomater. Sci. Polym. Ed. – 2010. – Vol. 21. – № 8-9. – P. 1227-1238.

278. Wang Z. Ablation of proliferating marrow with 5-fluorouracil allows partial purification of mesenchymal stem cells / Z. Wang, J. Song, R.S. Taichman // Stem Cells. – 2006. – Vol. 24. – № 6. – P. 1573-1582.

279. Warrer K. Effect of Tisseel on healing after periodontal flap surgery / K. Warrer, T. Karring // J. Clin. Periodontol. – 1992. – Vol. 19. – № 7. – P. 449-454.

280. Wei J.P. Human amniotic mesenchymal cells differentiate into chondrocytes / J.P. Wei, M. Nawata, S. Wakitani // Cloning Stem Cells. – 2009. – Vol. 11. – № 1. – P. 19-26.

281. Weibel E.R. Stereological methods / E.R. Weibel. – London: Academic Press, 1979. – 415 p.

282. Weinand C. Toward regenerating a human thumb in situ / C. Weinand, R. Gupta, E. Weinberg // Tissue Eng. Part A. – 2009. – Vol. 15. – № 9. – P. 2605-2615.

283. Weir M.D. Culture human mesenchymal stem cells with calcium phosphate cement scaffolds for bone repair / M.D. Weir, H.H. Xu // J. Biomed. Mater. Res. B Appl. Biomater. – 2010. – Vol. 93. – № 1. – P. 93-105.

284. Whitman D.H. Platelet gel: an autologous alternative to fibrin glue with applications in oral and maxillofacial surgery / D.H. Whitman, R.L. Berry, D.M. Green // J. Oral Maxillofac. Surg. – 1997. – Vol. 55. – № 11. – P. 1294-1299.

285. Wikesjo U.M. Periodontal repair in dogs. Effect of heparin treatment of the root surface / U.M. Wikesjo, N. Claffey, J. Egelberg // J. Clin. Periodontol. – 1991. – Vol. 18. – № 1. – P. 60-64.

286. Wu G. Odontogenic potential of mesenchymal cells from hair follicle dermal papilla / G. Wu, Z.H. Deng, X.J. Fan // Stem Cells Dev. – 2009. – Vol. 18. – № 4. – P. 583-589.

287. Xiao Y. Tissue engineering for bone regeneration using differentiated

alveolar bone cells in collagen scaffolds / Y. Xiao, H. Qian, W.G. Young // Tissue Eng. – 2003. – Vol. 9. – № 6. – P. 1167-1177.

288. Xu H.H. Umbilical Cord Stem Cell Seeding on Fast-Resorbable Calcium Phosphate Bone Cement / H.H. Xu, L. Zhao, M.S. Detamore // Tissue Eng. Part A. – 2010. Epub ahead of print.

289. Xu J. Multiple differentiation capacity of STRO-1+/CD146+ PDL mesenchymal progenitor cells / J. Xu, W. Wang, Y. Kapila // Stem Cells Dev. – 2009. – Vol. 18. – № 3. – P. 487-496.

290. Yamada Y. Bone regeneration following injection of mesenchymal stem cells and fibrin glue with a biodegradable scaffold / Y. Yamada, J.S. Boo, R. Ozawa // J. Craniomaxillofac. Surg. – 2003. – Vol. 31. – № 1. – P. 27-33.

291. Yamada Y. A novel approach to periodontal tissue regeneration with mesenchymal stem cells and platelet-rich plasma using tissue engineering technology: A clinical case report / Y. Yamada, M. Ueda, H. Hibi // Int. J. Periodontics Restorative Dent. – 2006. – Vol. 26. – № 4. – P. 363-369.

292. Yamada Y. A feasibility of useful cell-based therapy by bone regeneration with deciduous tooth stem cells, dental pulp stem cells, or bone-marrow-derived mesenchymal stem cells for clinical study using tissue engineering technology / Y. Yamada, S. Nakamura, K. Ito // Tissue Eng. Part A. – 2010. – Vol. 16. – № 6. – P. 1891-1900.

293. Yaman Z. Fibrin sealant fixation of a skin graft in mandibular vestibuloplasty. Case report / Z. Yaman // Aust. Dent. J. – 1998. – Vol. 43. – № 4. – P. 213-216.

294. Yamasaki T. Meniscal regeneration using tissue engineering with a scaffold derived from a rat meniscus and mesenchymal stromal cells derived from rat bone marrow / T. Yamasaki, M. Deie, R. Shinomiya // J. Biomed. Mater. Res A. – 2005. – Vol. 75. – № 1. – P. 23-30.

295. Yamasaki T. Transplantation of meniscus regenerated by tissue engineering with a scaffold derived from a rat meniscus and mesenchymal stromal cells derived from rat bone marrow / T. Yamasaki, M. Deie, R. Shinomiya // Artif.

Organs. – 2008. – Vol. 32. – № 7. – P. 519-524.

296. Yamaza T. Immunomodulatory properties of stem cells from human exfoliated deciduous teeth / T. Yamaza, A. Kentaro, C. Chen // Stem Cell. Res. Ther. – 2010. – Vol. 1. – № 1. – P. 5.

297. Yamazaki S. The effect of transforming growth factor-beta1 on intraosseous healing of flexor tendon autograft replacement of anterior cruciate ligament in dogs / S. Yamazaki, K. Yasuda, F. Tomita // Arthroscopy. – 2005. – Vol. 21. – № 9. – P. 1034-1041.

298. Yang L. Biomimetic calcium phosphate coatings on recombinant spider silk fibres / L. Yang, M. Hedhammar, T. Blom // Biomed. Mater. – 2010. – Vol. 5. – № 4. – P. 045002.

299. Yang Z.H. A novel possible strategy based on self-assembly approach to achieve complete periodontal regeneration / Z.H. Yang, F. Jin, X.J. Zhang // Artif. Organs. – 2010. Epub ahead of print.

300. Yoshimi R. Self-assembling peptide nanofiber scaffolds, platelet-rich plasma, and mesenchymal stem cells for injectable bone regeneration with tissue engineering / R. Yoshimi, Y. Yamada, K. Ito // J. Craniofac. Surg. – 2009. – Vol. 20. – № 5. – P. 1523-1530.

301. You T.M. Platelet-enriched fibrin glue and platelet-rich plasma in the repair of bone defects adjacent to titanium dental implants / T.M. You, B.H. Choi, S.J. Zhu // Int. J. Oral. Maxillofac. Implants. – 2007. – Vol. 22. – № 3. – P. 417-422.

302. You T.M. Treatment of experimental peri-implantitis using autogenous bone grafts and platelet-enriched fibrin glue in dogs / T.M. You, B.H. Choi, S.J. Zhu // Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod. – 2007. – Vol. 103. – № 1. – P. 34-37.

303. Zhang X. A perspective: engineering periosteum for structural bone graft healing / X. Zhang, H.A. Awad, R.J. O'Keefe // Clin. Orthop. Relat. Res. – 2008. – Vol. 466. – № 8. – P. 1777-1787.

304. Zhang X. The immunologic properties of undifferentiated and osteogenic differentiated mouse mesenchymal stem cells and its potential application

in bone regeneration / X. Zhang, T. Tang, Q. Shi // Immunobiology. – 2009. – Vol. 214. – № 3. – P. 179-186.

305. Zhang Z.Y. Neo-vascularization and bone formation mediated by fetal mesenchymal stem cell tissue-engineered bone grafts in critical-size femoral defects / Z.Y. Zhang, S.H. Teoh, M.S. Chong // Biomaterials. – 2010. – Vol. 31. – № 4. – P. 608-620.

306. Zhao L. Fatigue and human umbilical cord stem cell seeding characteristics of calcium phosphate-chitosan-biodegradable fiber scaffolds / L. Zhao, E.F. Burguera, H.H. Xu // Biomaterials. – 2010. – Vol. 31. – № 5. – P. 840-847.

307. Zhao L. An injectable calcium phosphate-alginate hydrogel-umbilical cord mesenchymal stem cell paste for bone tissue engineering / L. Zhao, M.D. Weir, H.H. Xu // Biomaterials. – 2010. Epub ahead of print.

308. Zhao Z.Y. Research on chondrogenic differentiation and immunologic response of allogeneic mesenchymal stem cells implanted into joint cavity / Z.Y. Zhao, L. Yang, P. Xu // Zhonghua Wai Ke Za Zhi. – 2005. – Vol. 43. – № 20. – P. 1340-1343.

309. Zhu S.J. A comparative qualitative histological analysis of tissue-engineered bone using bone marrow mesenchymal stem cells, alveolar bone cells, and periosteal cells / S.J. Zhu, B.H. Choi, J.Y. Huh // Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod. – 2006. – Vol. 101. – № 2. – P. 164-169.

310. Zippel N. Biomaterials and mesenchymal stem cells for regenerative medicine / N. Zippel, M. Schulze, E. Tobiasch // Recent Pat. Biotechnol. – 2010. – Vol. 4. – № 1. – P. 1-22.

ПРИЛОЖЕНИЕ А (обязательное)

Рисунки к 2

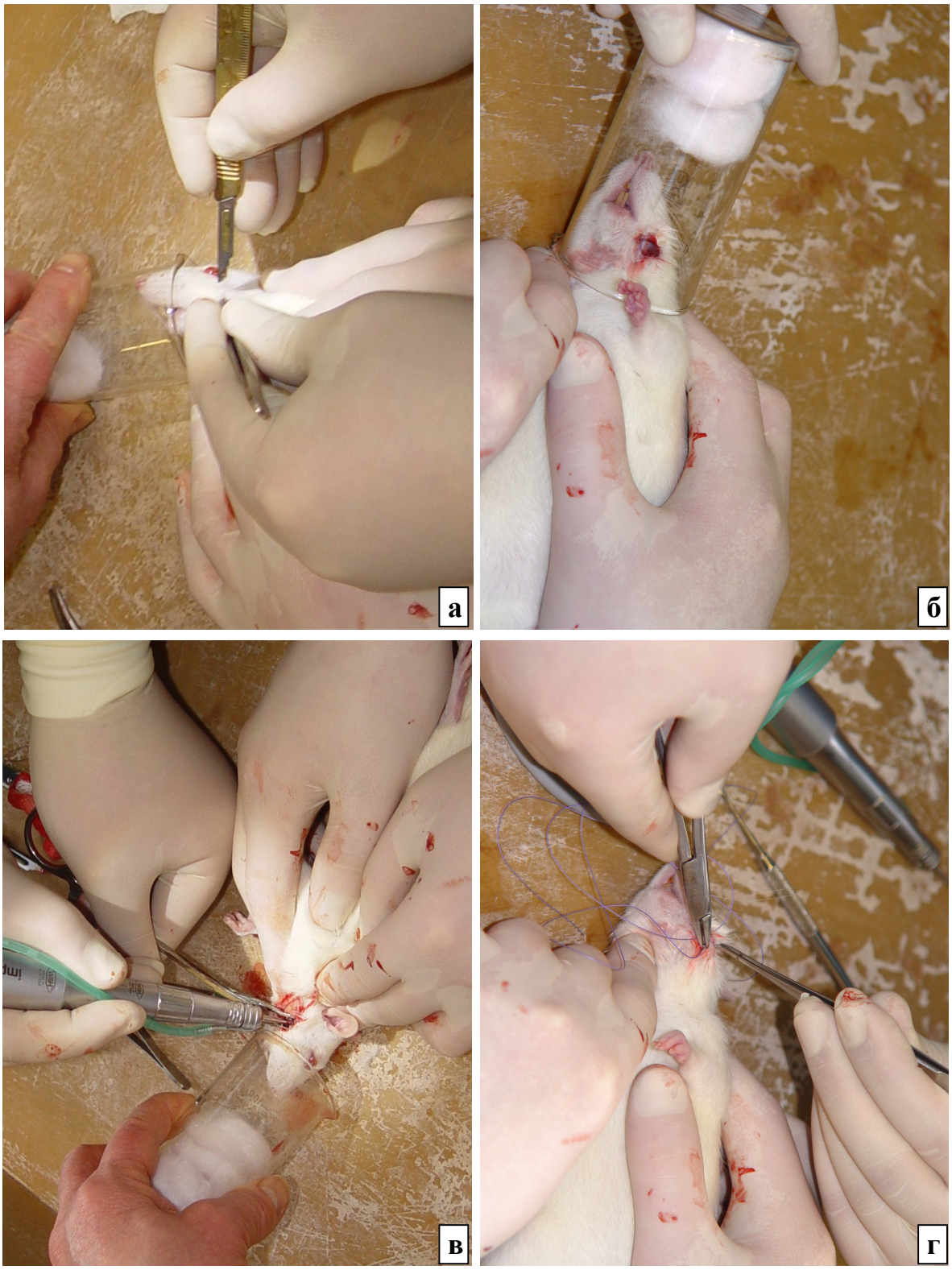


Рисунок 1 – Ход хирургического вмешательства по созданию дефекта кости нижней челюсти. а – Под общим эфирным наркозом разрез кожи скальпелем с одноразовым сменным лезвием. б – В разрезе кожи видна жевательная мышца. в – Создание дефекта кости нижней челюсти стоматологическим бором с охлаждением стерильным физиологическим раствором. г – Ушивание кожной раны викрилом.

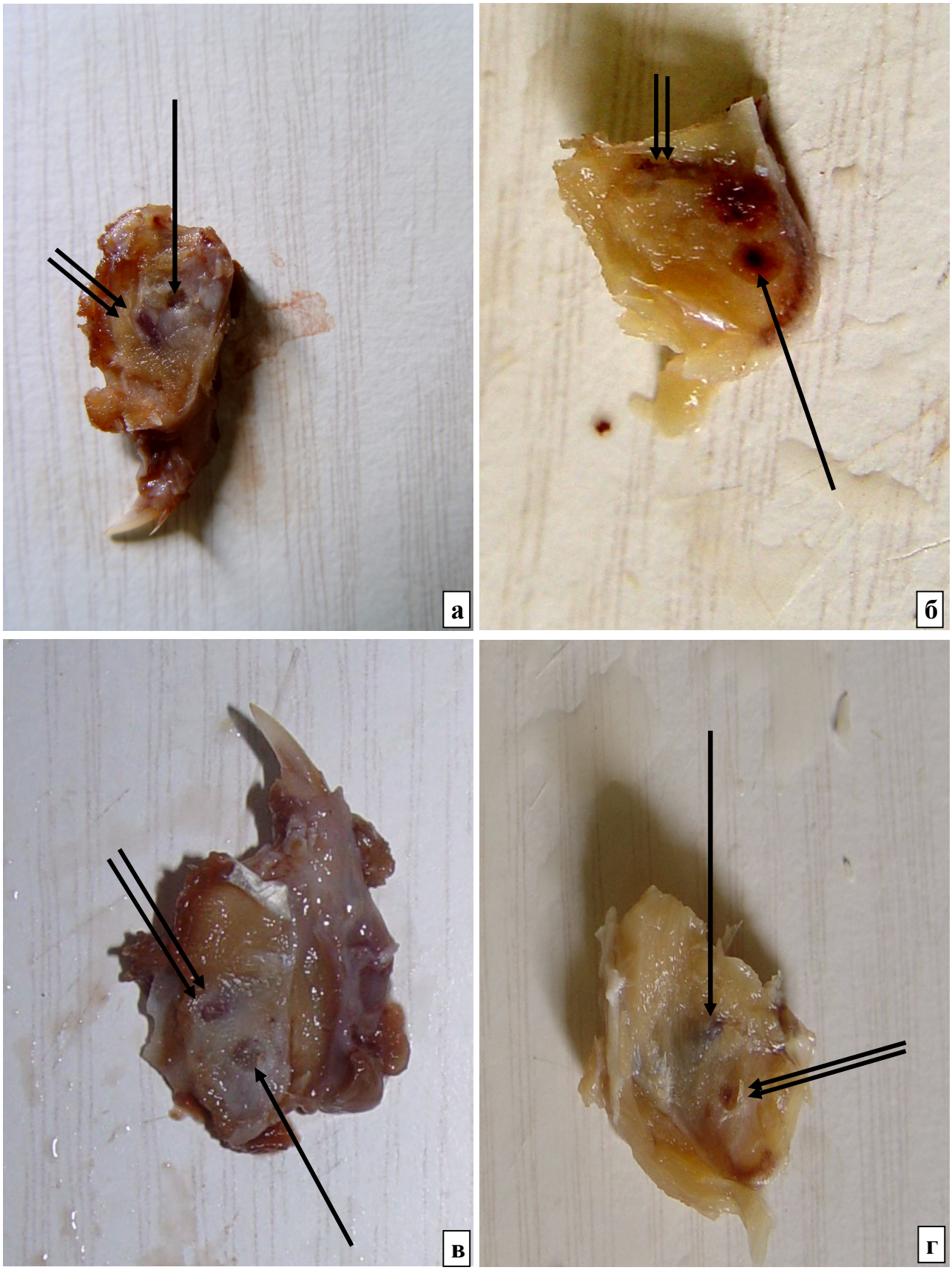


Рисунок 2 – Макропрепарат нижней челюсти через 1 неделю после создания дефекта: а – при спонтанной регенерации, б – после применения БТФС. в – после введения АПСККП, г - после использования БТФС с АПСККП. Признаков гнойного воспалительного процесса нет. Одной стрелкой указано искусственно созданное отверстие, двумя стрелками – корень центрального резца.

ПРИЛОЖЕНИЕ Б

(обязательное)

Рисунки к 3

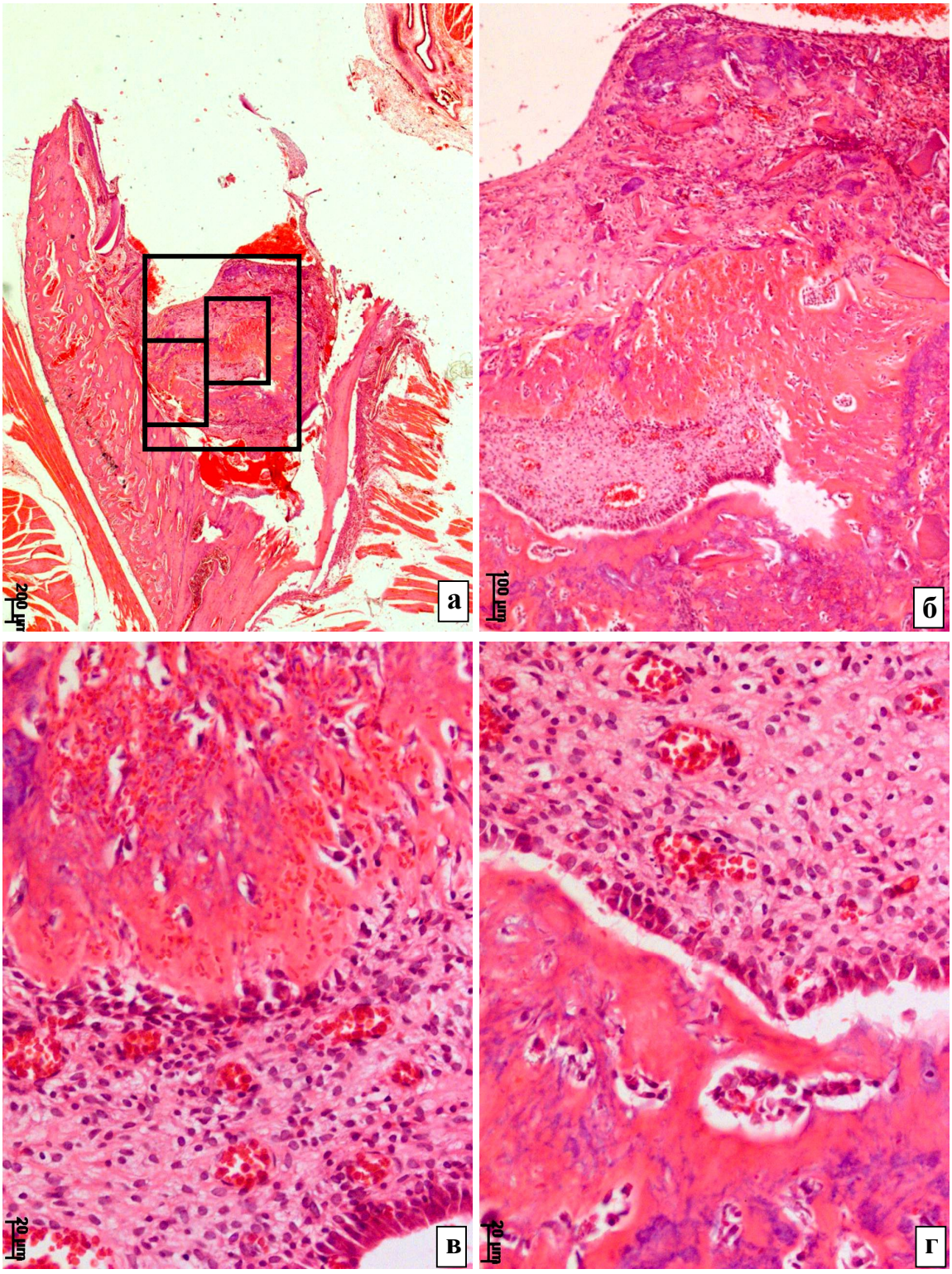


Рисунок 3 – Дефект кости нижней челюсти при самостоятельной регенерации через 1 неделю после операции. Окраска гематоксилином и эозином. а - Отверстие частично заполнено кровью. б - По периферии кровяного сгустка присутствуют грануляции. в, г - Формирование отдельных островков костной ткани среди грануляций и в кровяном сгустке.

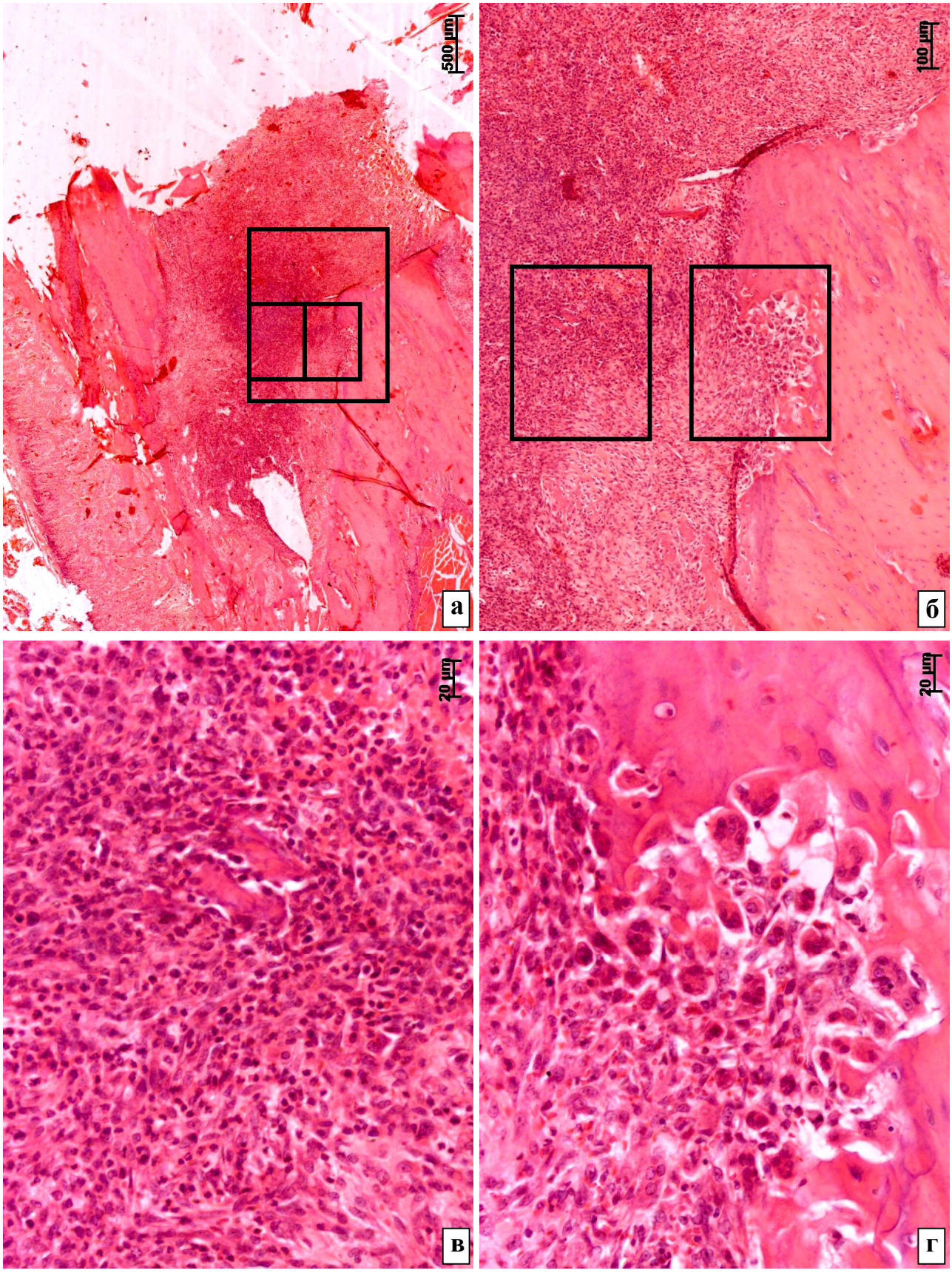


Рисунок 4 – Спонтанное заживление участка повреждения кости нижней челюсти спустя 1 неделю после операции. Окраска гематоксилином и эозином. а – Дефект заполнен детритом. б – Лейкоцитарная инфильтрация детрита. в – Преобладание в цитограмме лейкоцитов нейтрофилов и макрофагов, начало формирования костной ткани. г – Начало образования кости на периферии отверстия.

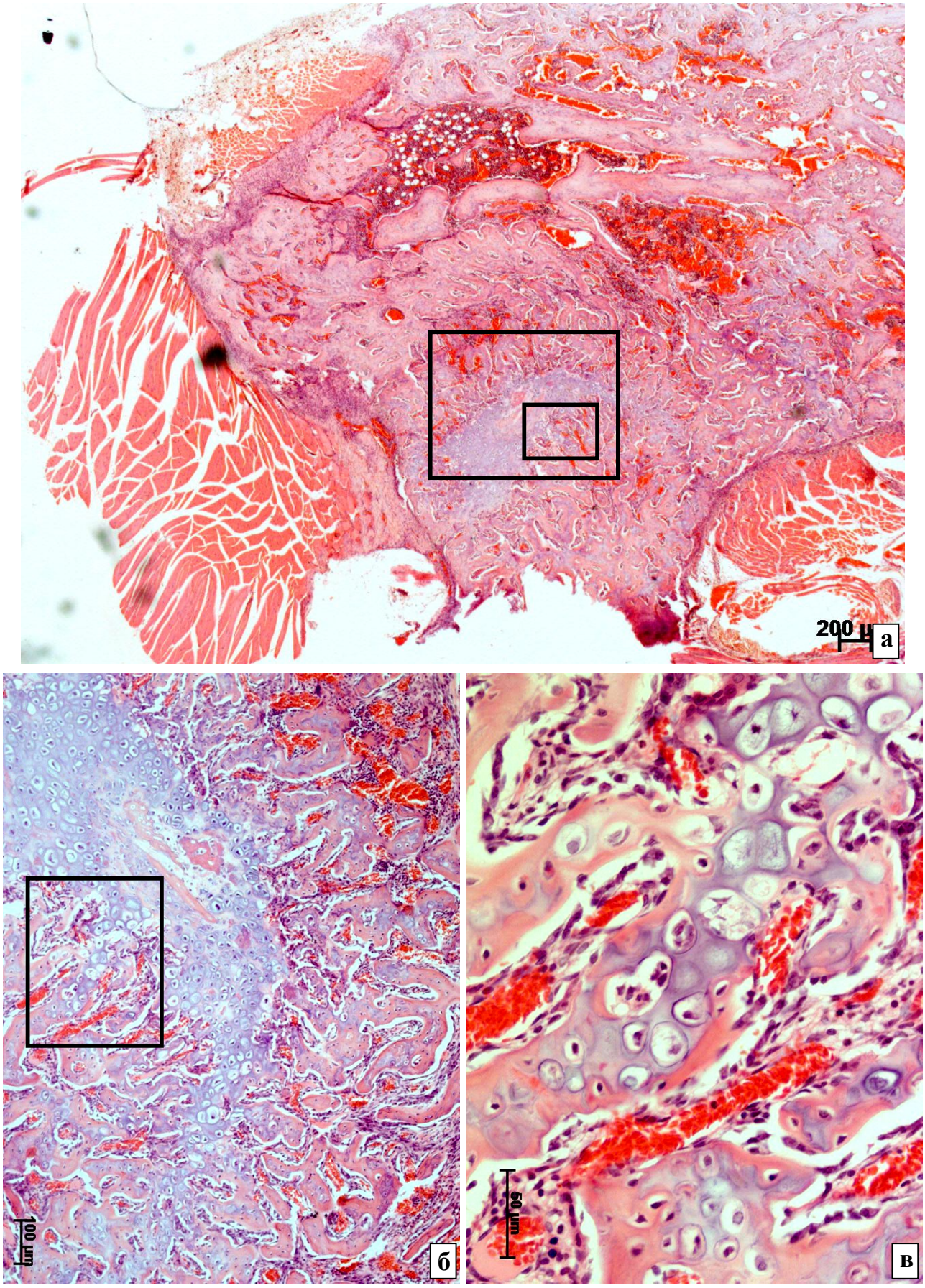


Рисунок 5 – Дефект кости нижней челюсти при самостоятельной регенерации через 2 недели после операции. Окраска гематоксилином и эозином. а – Формирование хрящевой ткани в дефекте. б, в – Хрящевая ткань с большим числом кровеносных сосудов на периферии.

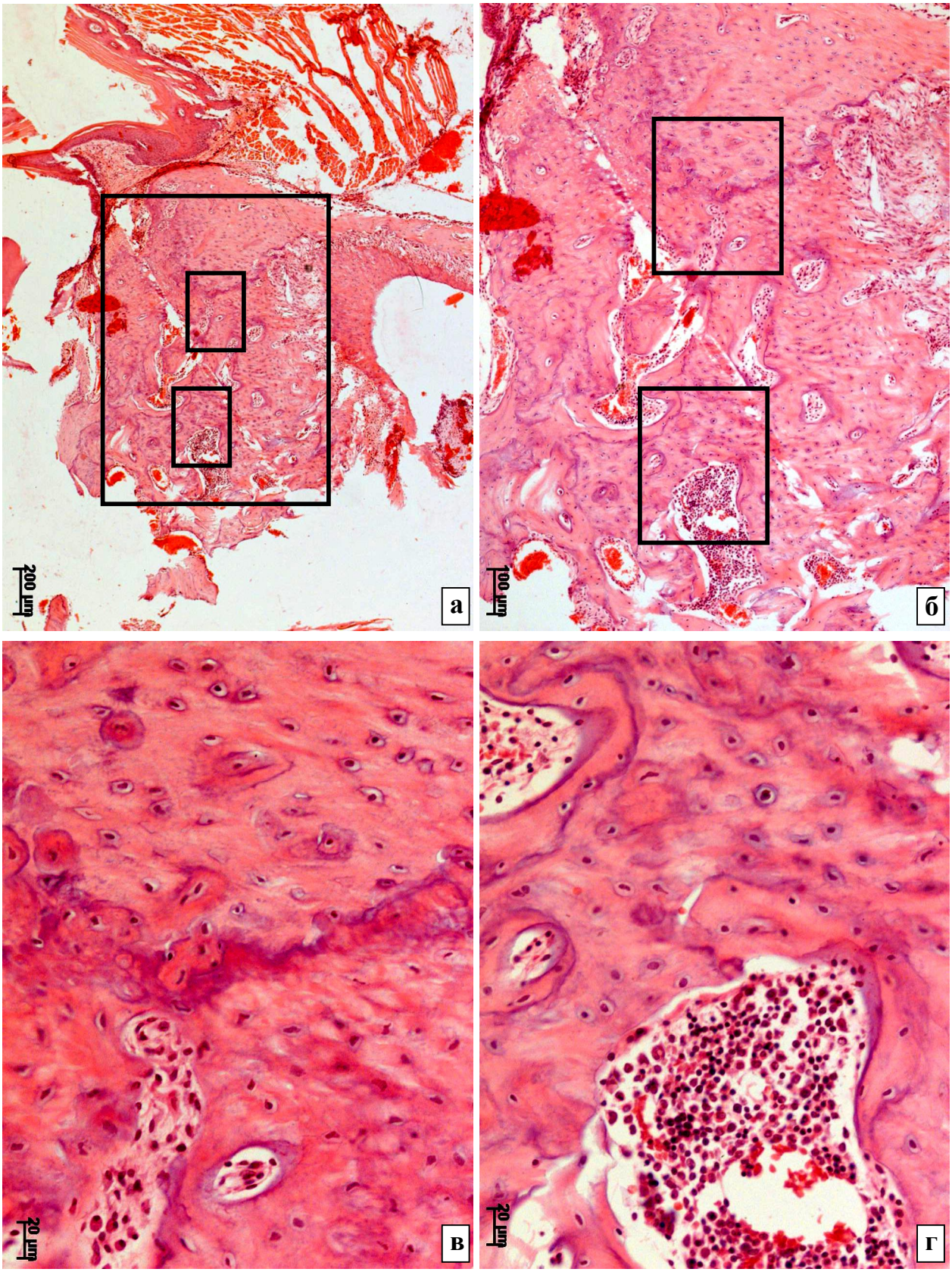


Рисунок 6 – Спонтанное заживление участка повреждения кости нижней челюсти спустя 3 недели после операции. Окраска гематоксилином и эозином. а – Дефект заполнен молодой костной тканью. б – В ткани на участке повреждения кости большое число кровеносных сосудов и четкая граница с окружающей костью. в – Четкая граница по периферии искусственно созданного отверстия. г – Начало формирования полостей с красным костным мозгом в молодой костной ткани.

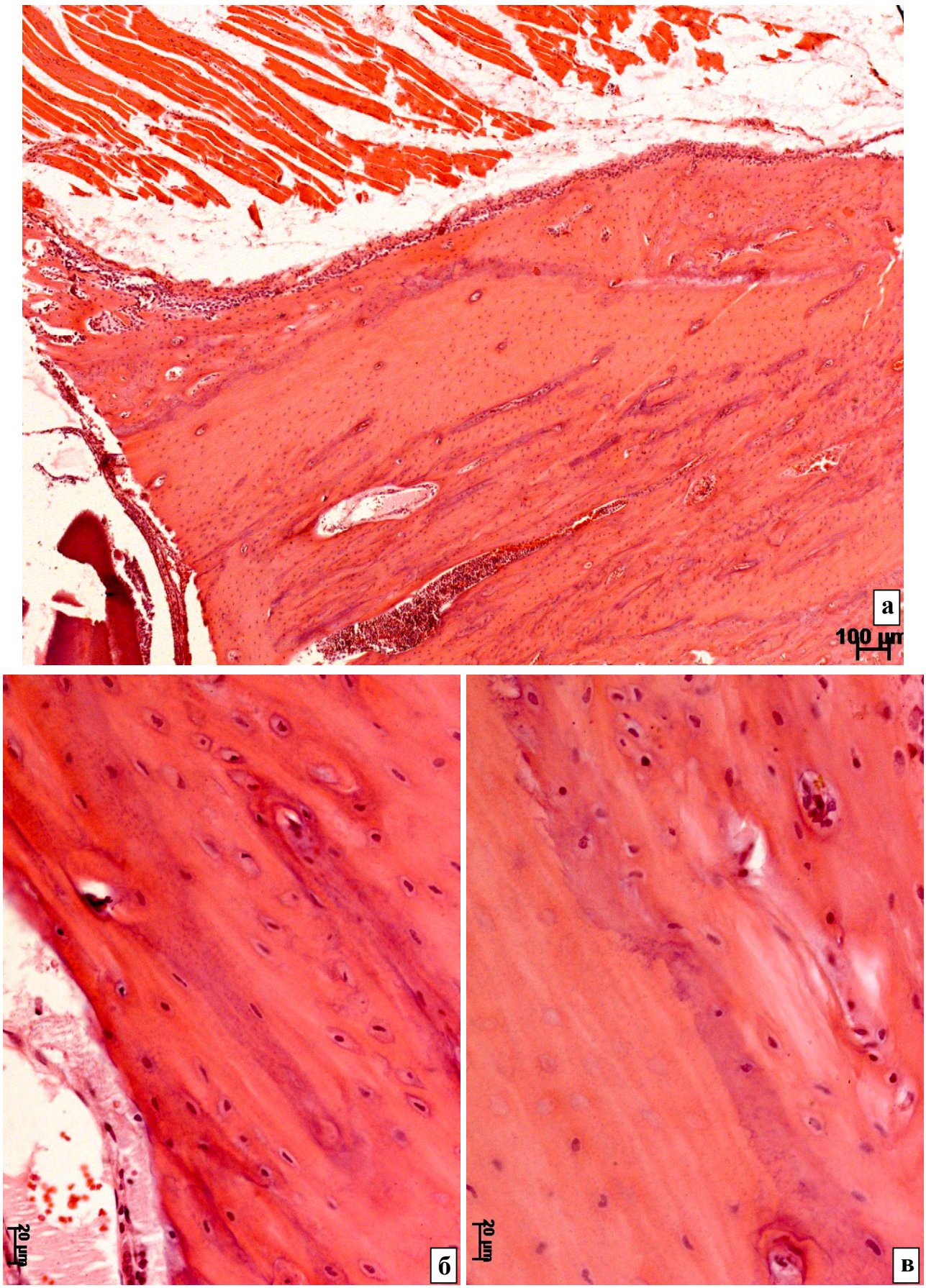


Рисунок 7 – Дефект кости нижней челюсти при самостоятельной регенерации через 3 недели после операции. Окраска гематоксилином и эозином. а – Хаотично расположенные балки костной ткани в участке повреждения кости. б, в – Другие участки костной мозоли на большом увеличении.

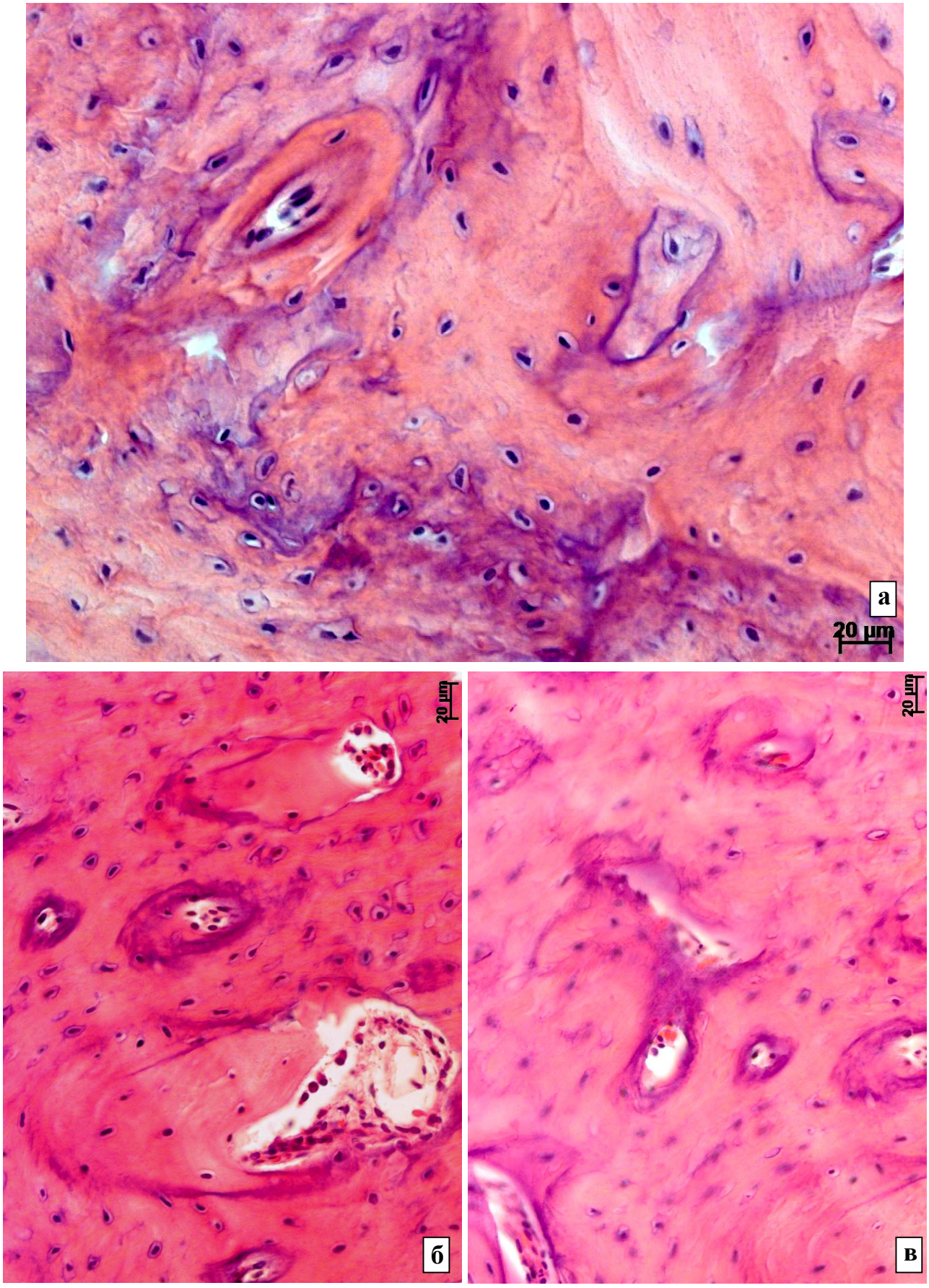


Рисунок 8 – Дефект кости нижней челюсти при самостоятельной регенерации через 4 недели после операции. Окраска гематоксилином и эозином. а, б и в – Хаотично расположенные балки костной ткани в костной мозоли нижних челюстей различных животных.

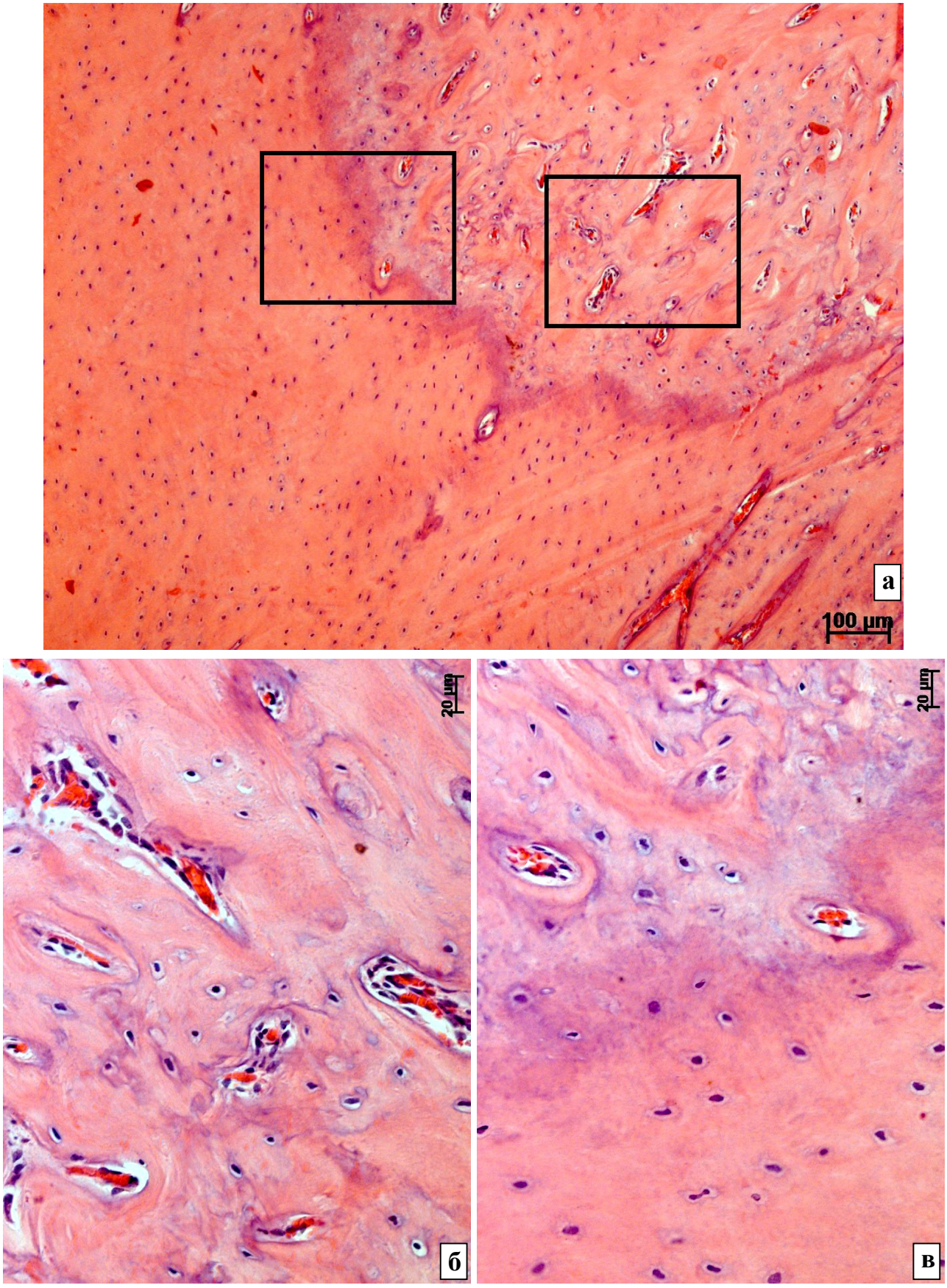


Рисунок 9 – Спонтанное заживление участка повреждения кости нижней челюсти спустя 4 недели после операции. Окраска гематоксилином и эозином. а – Костная мозоль с четкими границами на месте искусственно созданного отверстия. б, в – Структуры границы костной мозоли на большом увеличении.

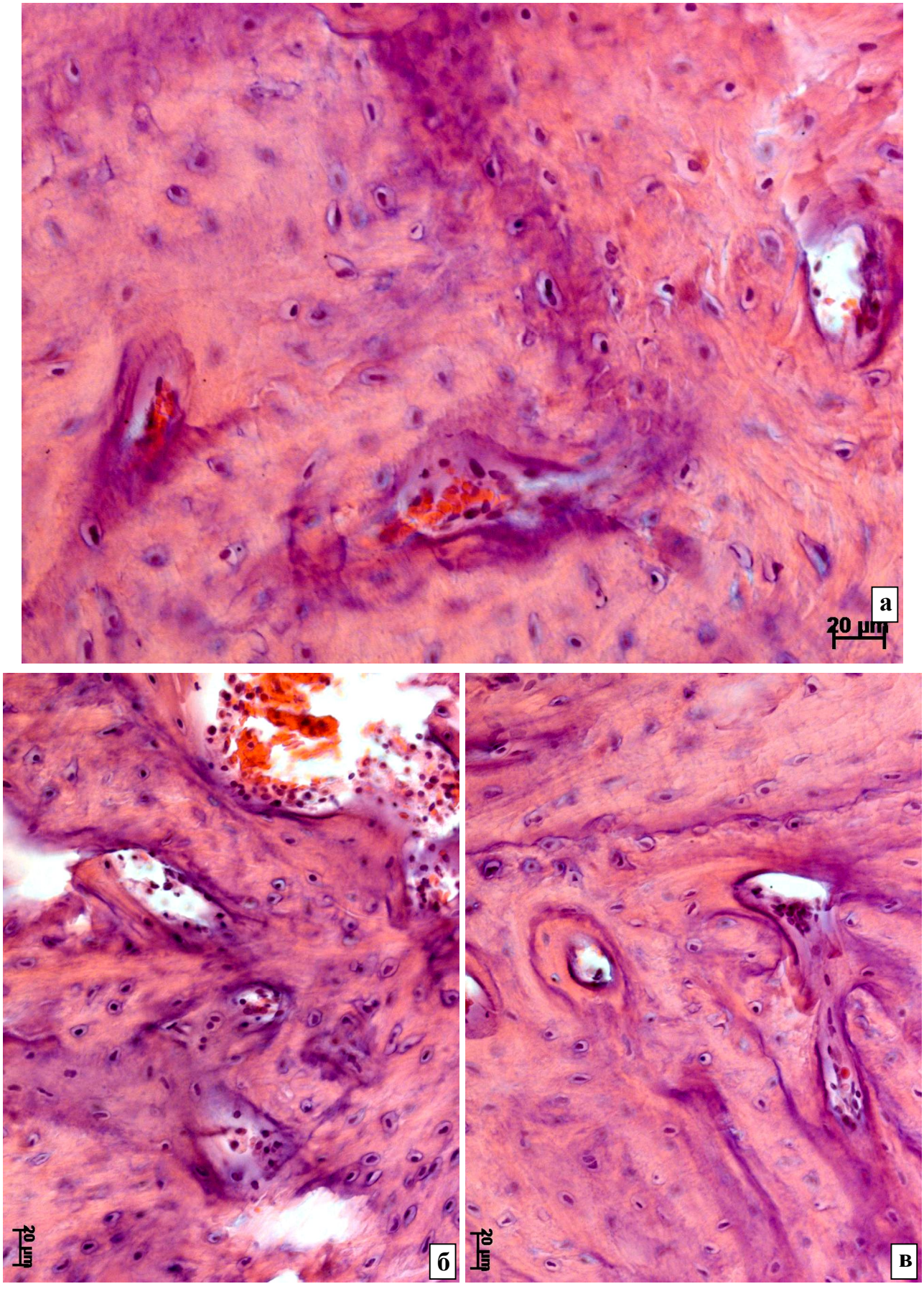


Рисунок 10 – Дефект кости нижней челюсти при самостоятельной регенерации через 4 недели после операции. Окраска гематоксилином и эозином. а, б, в – Хаотично расположенные балки костной ткани в костной мозоли нижних челюстей разных животных.

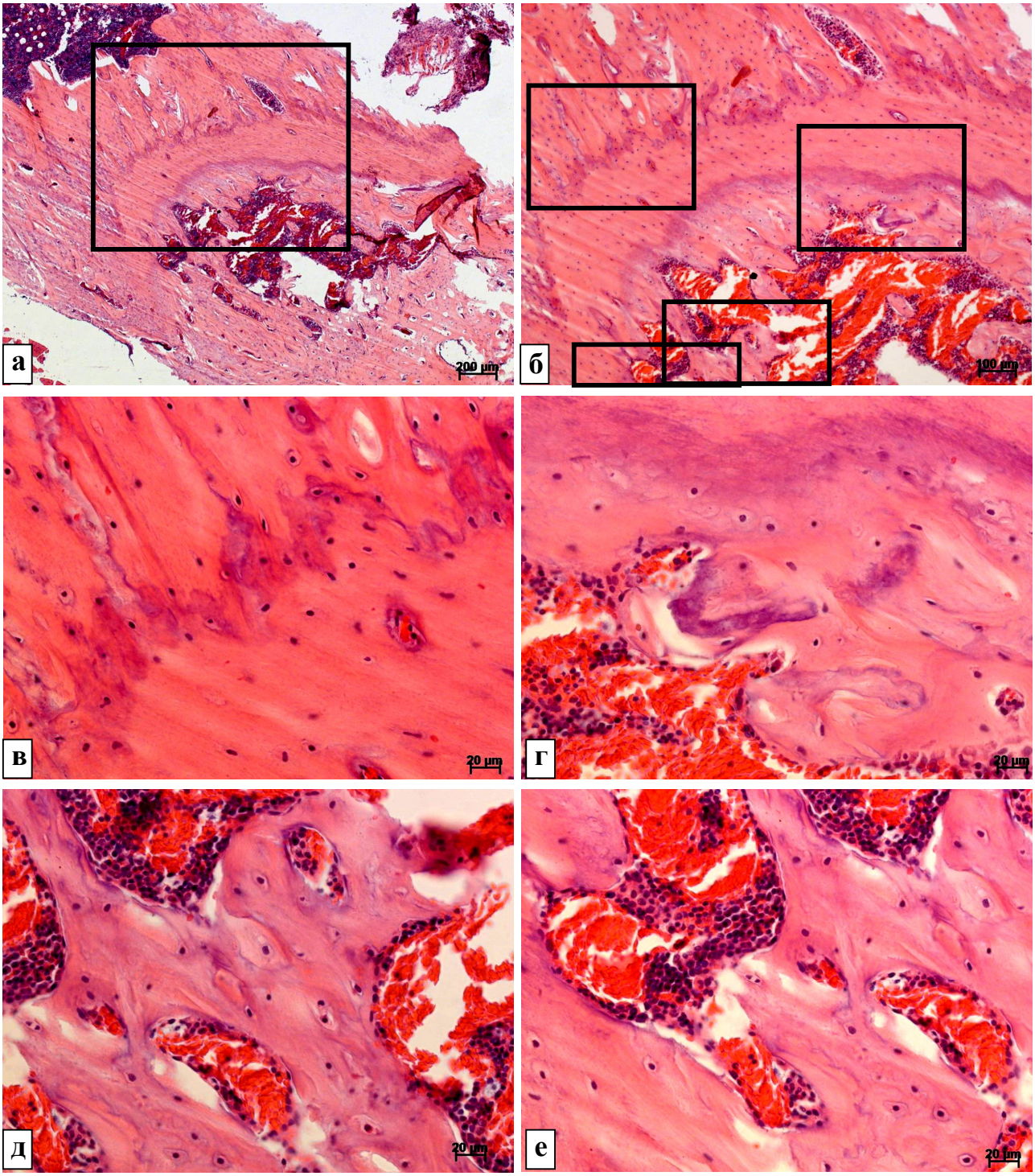


Рисунок 11 – Спонтанное заживление участка повреждения кости нижней челюсти спустя 4 недели после операции. Окраска гематоксилином и эозином. а – Костная мозоль с четкими границами и большой полостью с костным мозгом на месте искусственно созданного отверстия. б, в, г, д, е – Структуры костной мозоли и костного мозга на большом увеличении.

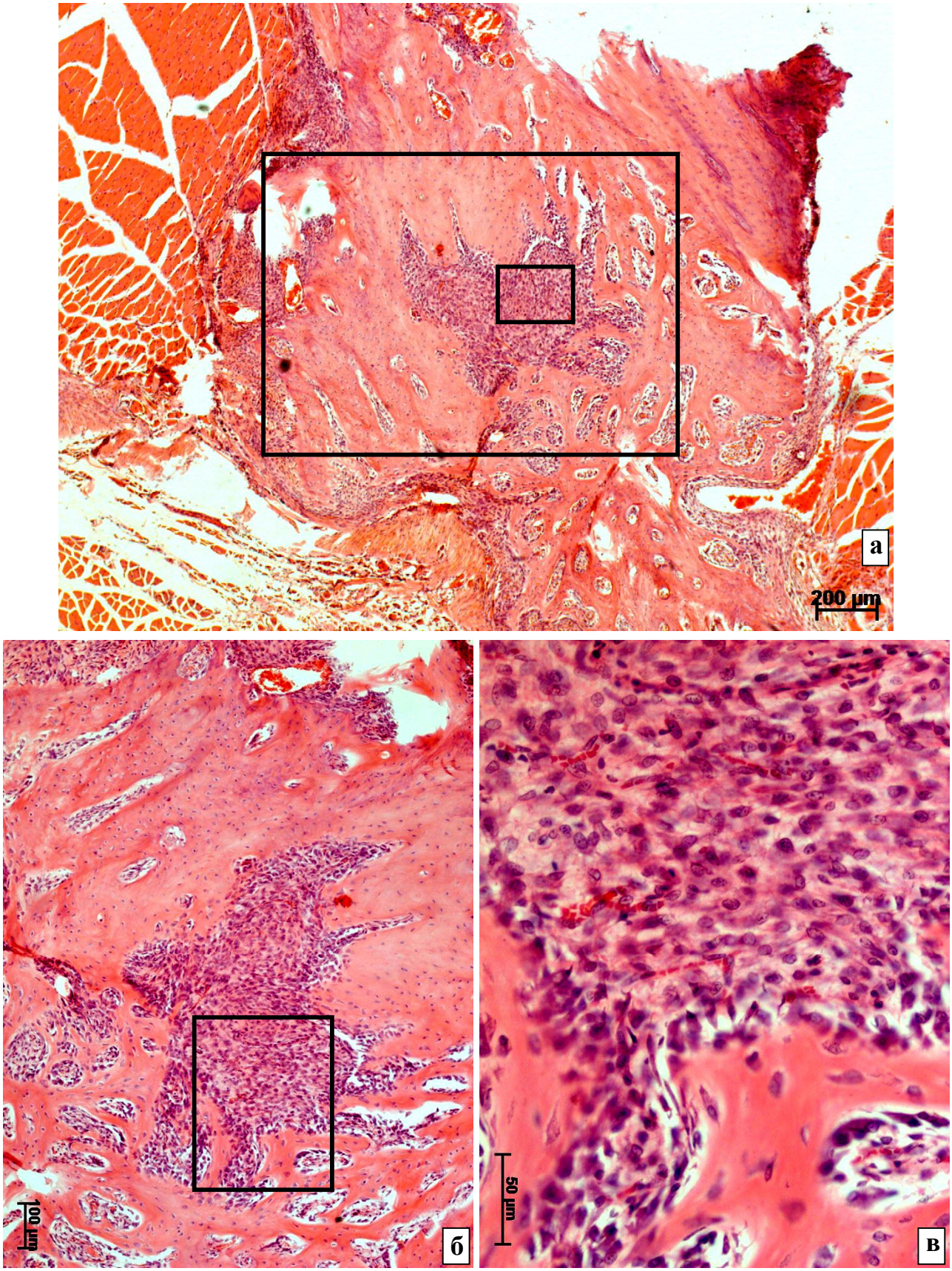


Рисунок 12 – Дефект кости нижней челюсти при самостоятельной регенерации через 4 недели после операции. Окраска гематоксилином и эозином. а - Участок повреждения заполнен соединительной тканью с большим числом клеток. б – Соединительная ткань на участке повреждения кости. в – Кровеносные капилляры и клетки в соединительной ткани на месте костного дефекта.

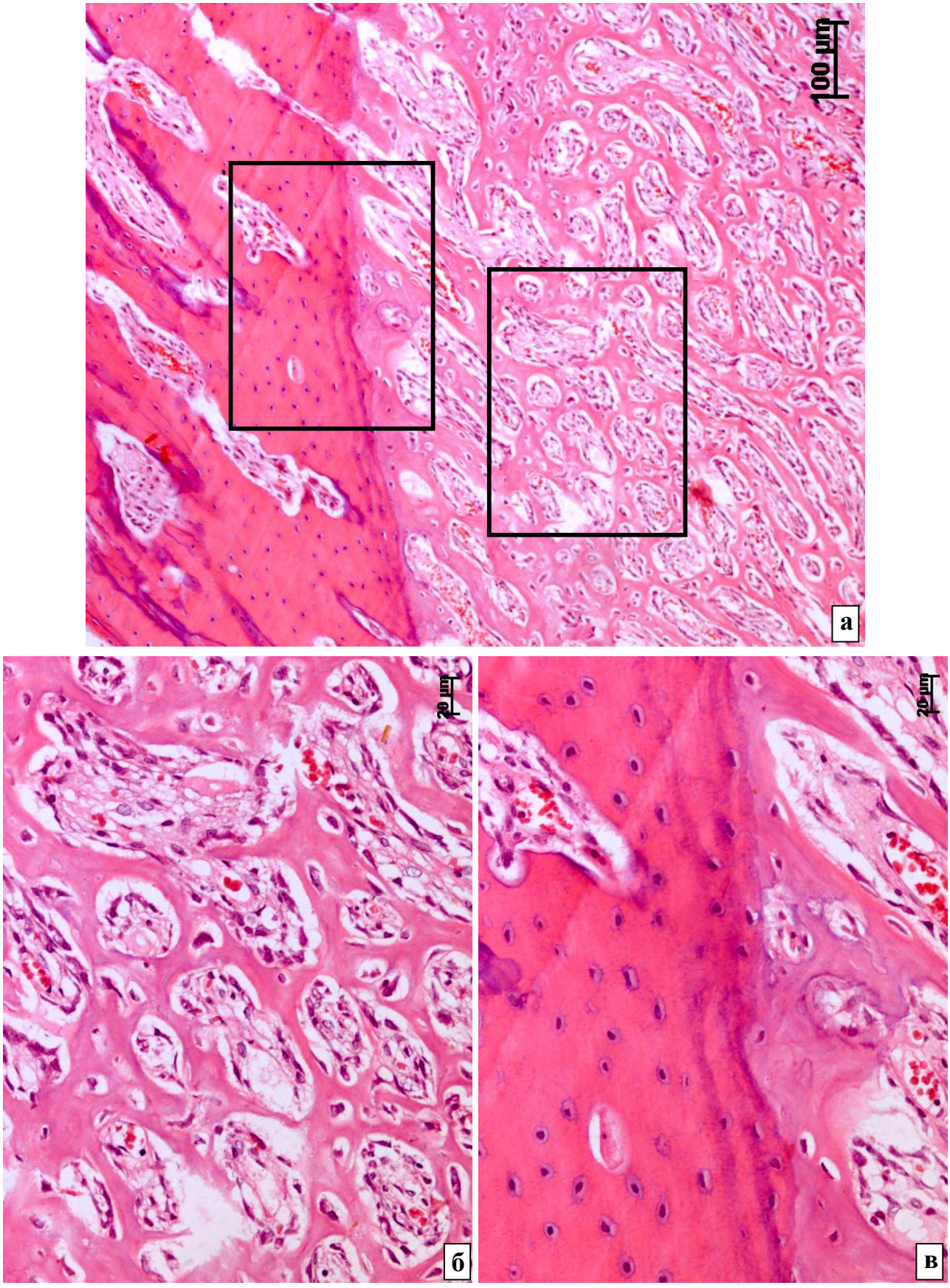


Рисунок 13 – Заживление участка повреждения кости нижней челюсти после использования БТФС спустя 1 неделю после операции. Окраска гематоксилином и эозином. а – Дефект кости заполнен слившимися островками молодой костной ткани с большим числом сосудов. б – Слившиеся островки молодой костной ткани. в – Граница участка повреждения.

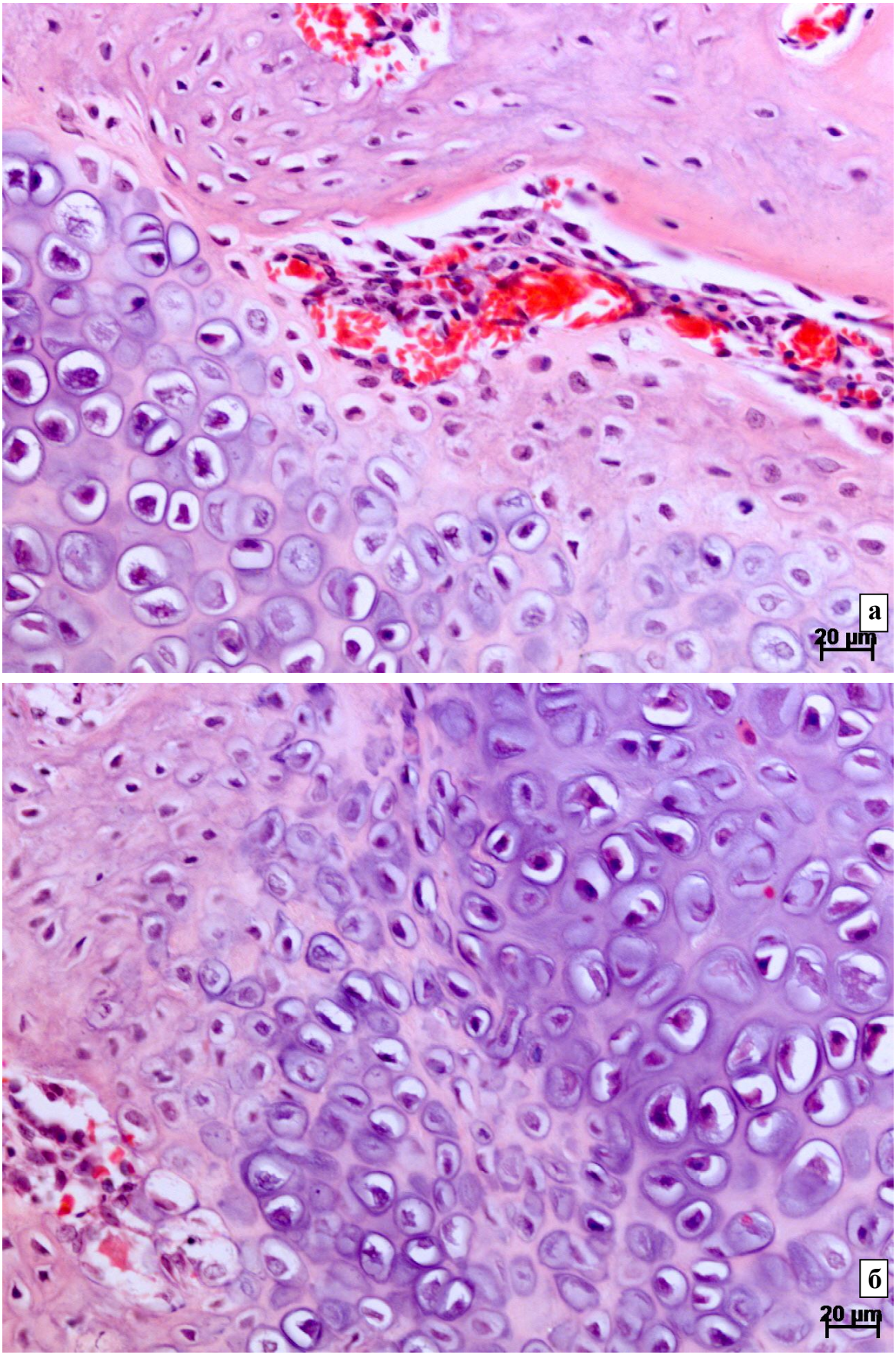


Рисунок 14 – Дефект кости нижней челюсти после применения БТФС через 2 недели после операции. Окраска гематоксилином и эозином. а и б - Отверстие полностью заполнено хрящевой тканью с большим числом кровеносных сосудов на периферии (по границе дефекта).

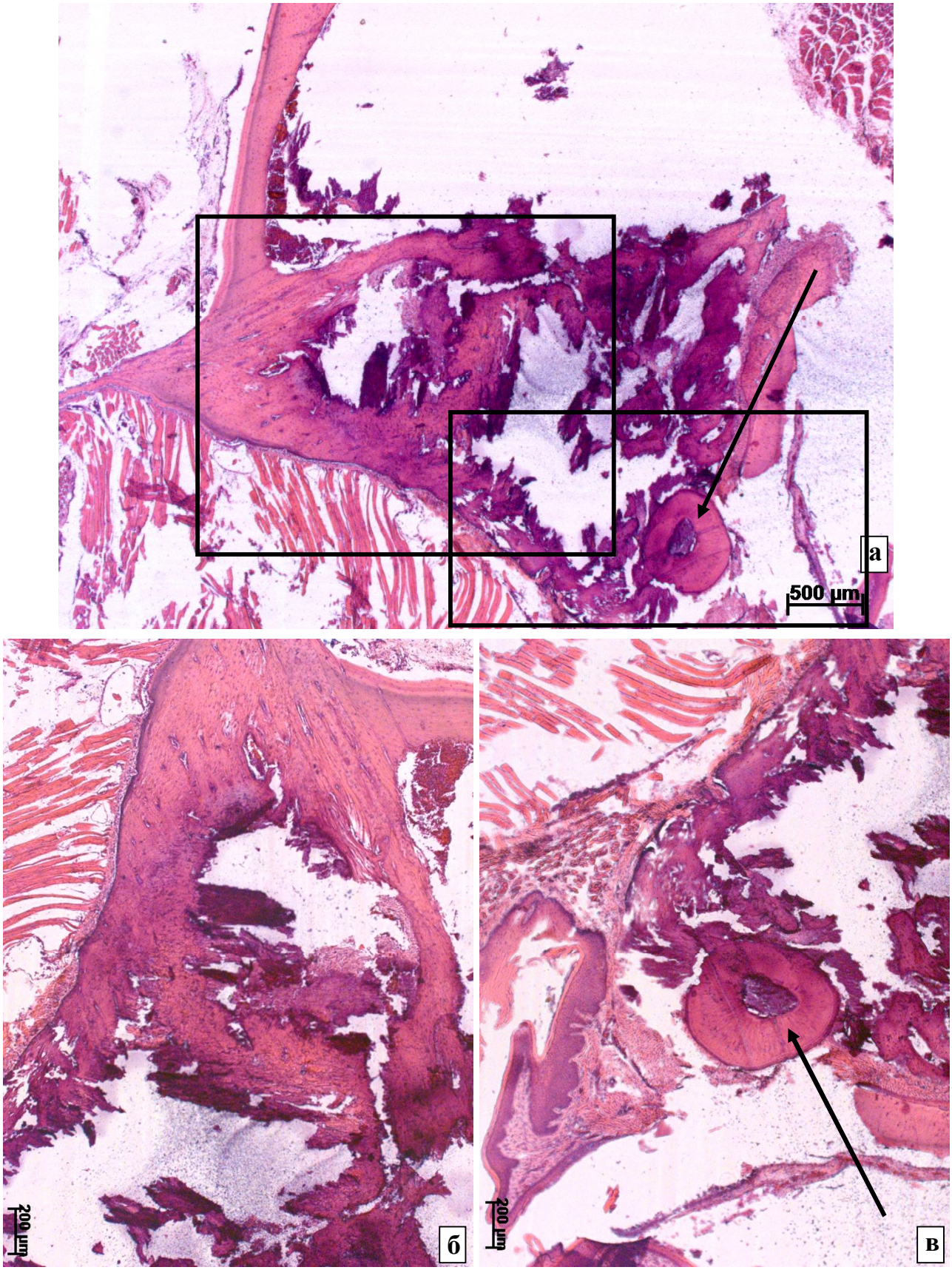


Рисунок 15 – Дефект кости нижней челюсти после применения БТФС через 4 недели после операции. Окраска гематоксилином и эозином. а – Полностью разрушенный корень центрального резца, отверстие в кости и окружающие ткани содержат большой объем детрита. б – Дефект кости сохраняется, в окружающих тканях присутствует детрит. в – Начало регенерации корня поврежденного зуба (указано стрелками).

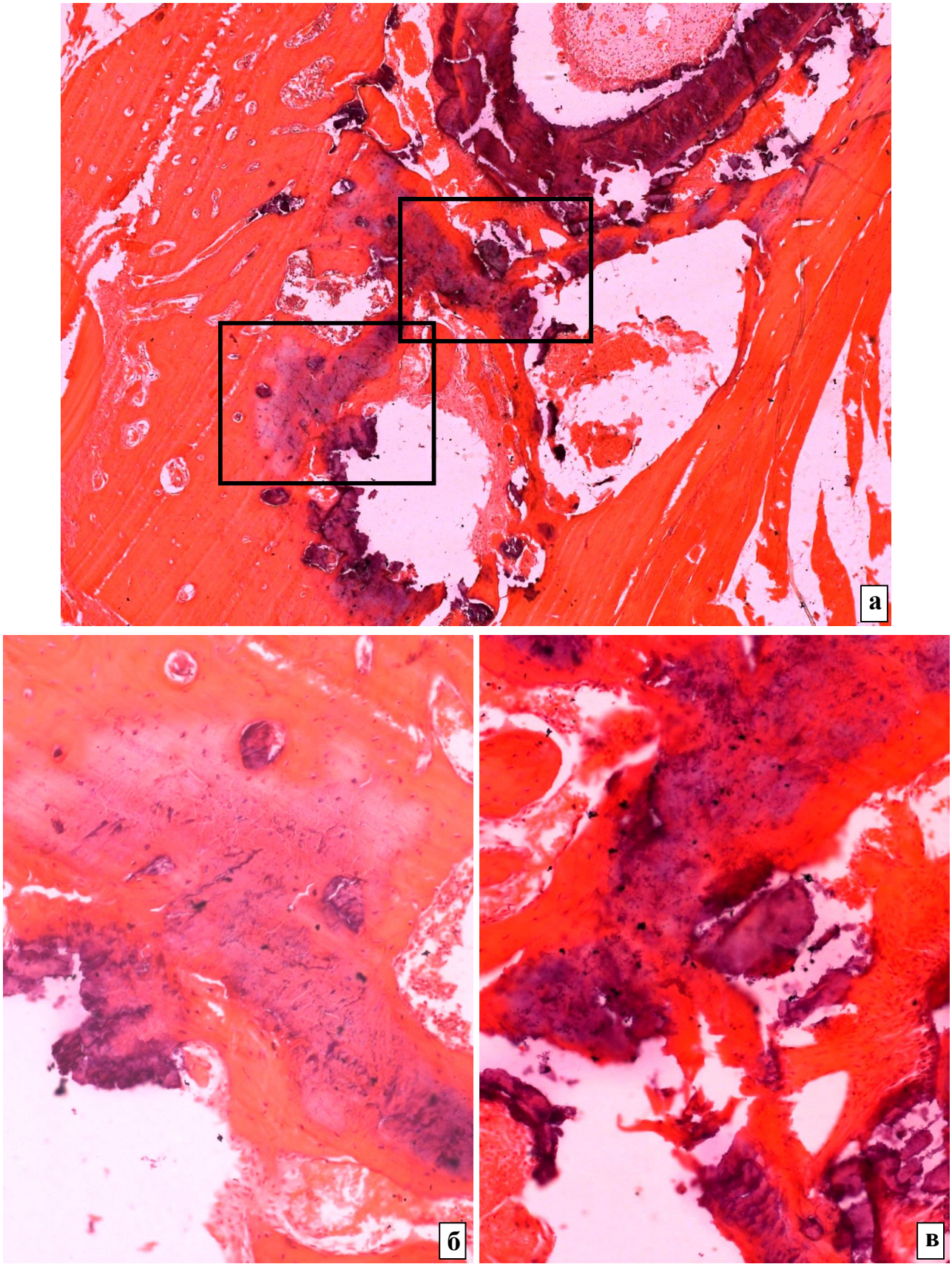


Рисунок 16 – Дефект кости нижней челюсти после применения БТФС через 5 недель после операции. Окраска гематоксилином и эозином. а – Полностью разрушенный корень центрального резца, сохраняется отверстие в кости, везде присутствует большой объем детрита. б – Детрит по границе дефекта кости. в – Нежизнеспособные ткани корня центрального резца. Увеличение: а – 80 Х, б, в – 220 Х.

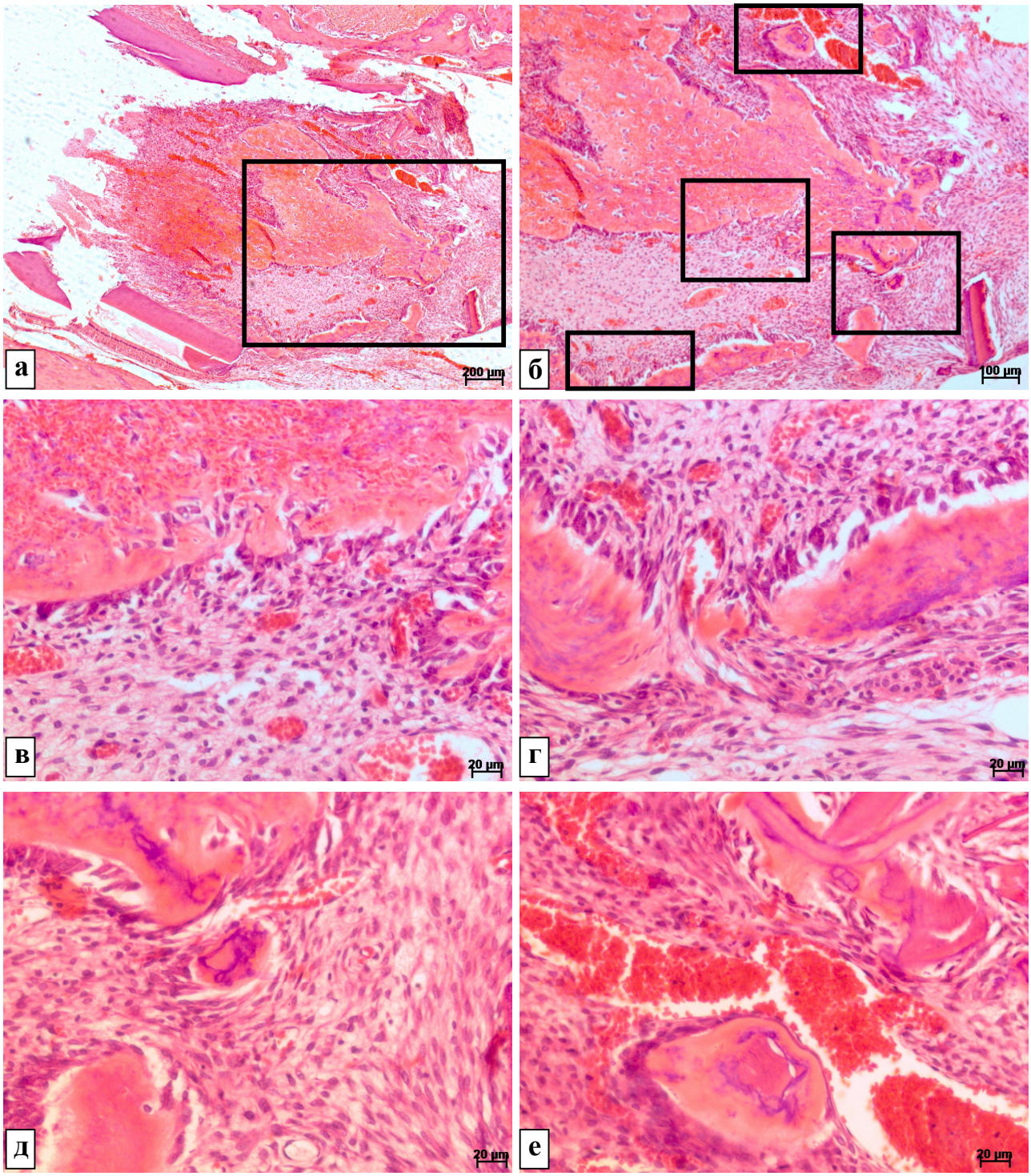


Рисунок 17 – Дефект кости нижней челюсти через 1 неделю после операции и введения АПСККП. Окраска гематоксилином и эозином. а, б - Дефект кости заполнен кровью, между кровяным сгустком и краем дефекта присутствуют типичные грануляции с многочисленными широкими кровеносными сосудами. в, г, д, е - Формирование отдельных островков молодой кости и хряща среди грануляций и в кровяном сгустке в центре отверстия.

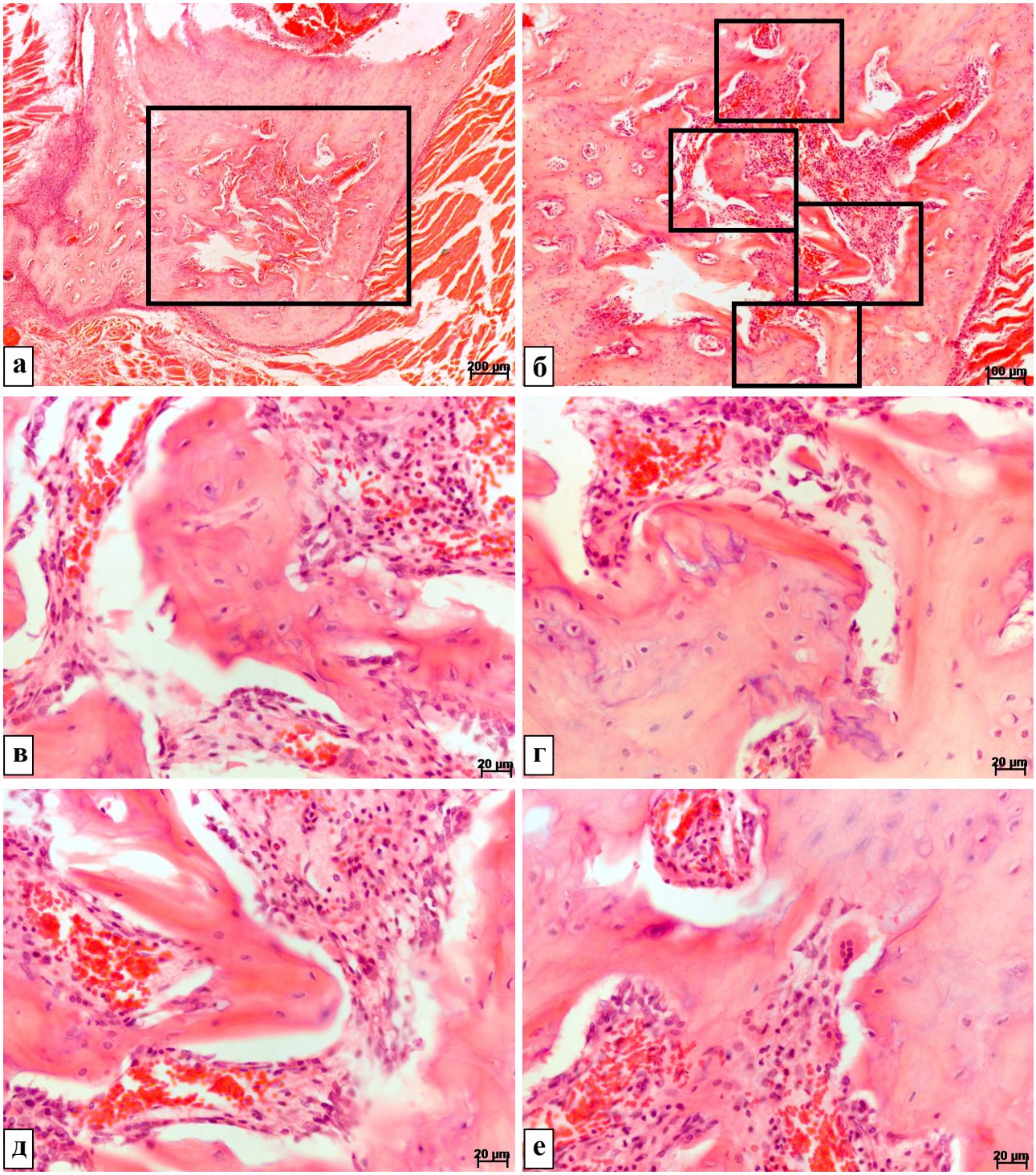


Рисунок 18 – Результаты применения АПСККП спустя 2 недели после операции. Отверстие нижней челюсти полностью замещено слившимися островками молодой костной ткани со сформированными структурами красного костного мозга между ними. На некоторых участках присутствуют большие многоядерные клетки – мегакариоциты (фрагменты д, е). Окраска гематоксилином и эозином.

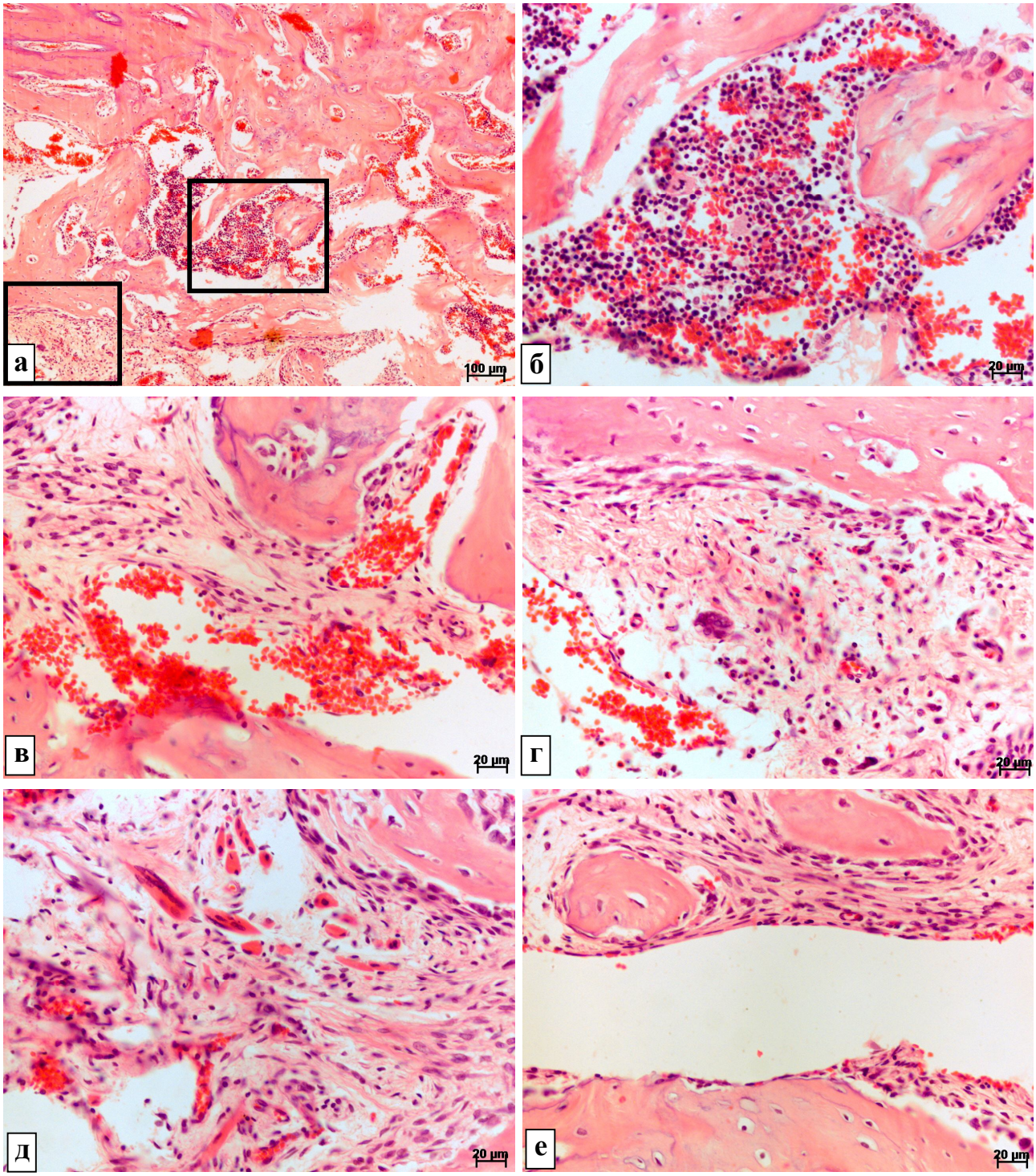


Рисунок 19 – Дефект кости нижней челюсти через 3 недели после операции и введения АПСККП. Окраска гематоксилином и эозином. а, б - Развитие структур красного костного мозга в центре отверстия. в, г, д, е – Формирование костной ткани на периферии дефекта, где присутствует соединительная ткань с многочисленными кровеносными сосудами (грануляции).

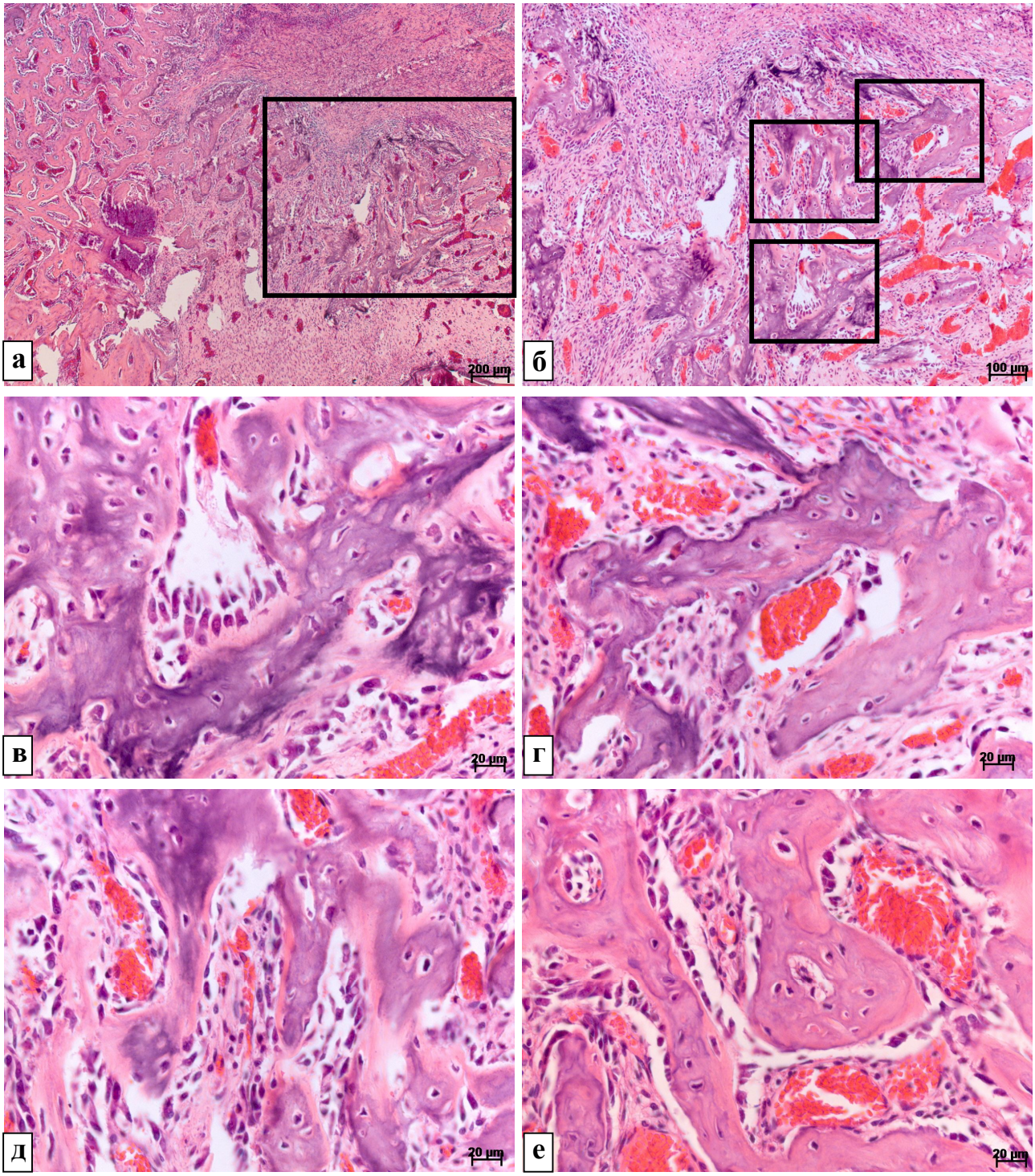


Рисунок 20 – Результаты применения АПСККП спустя 4 недели после операции. Практически вся кость в области угла нижней челюсти представлена обширными слившимися островками молодой костной ткани с большим числом широких полнокровных сосудов между ними. Окраска гематоксилином и эозином.

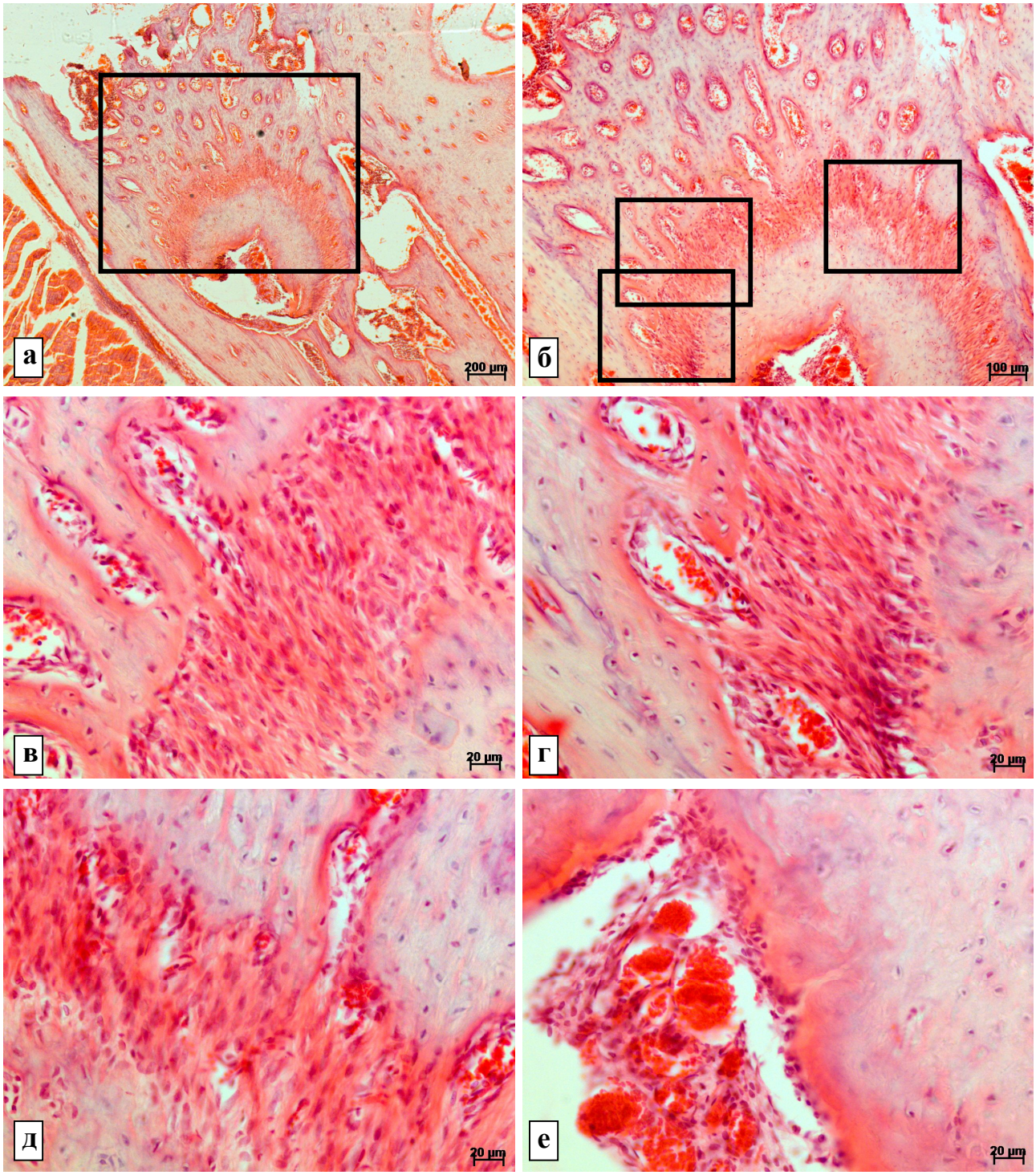


Рисунок 21 – Дефект кости нижней челюсти через 1 неделю после операции и введения БТФС с АПСККП. Окраска гематоксилином и эозином. а, б - Дефект кости нижней челюсти практически полностью заполнен молодой сформированной костной тканью, которая отделена от края дефекта соединительной тканью с грануляциями. в, г, д, е – Соединительная ткань и грануляции в участке повреждения костной ткани.

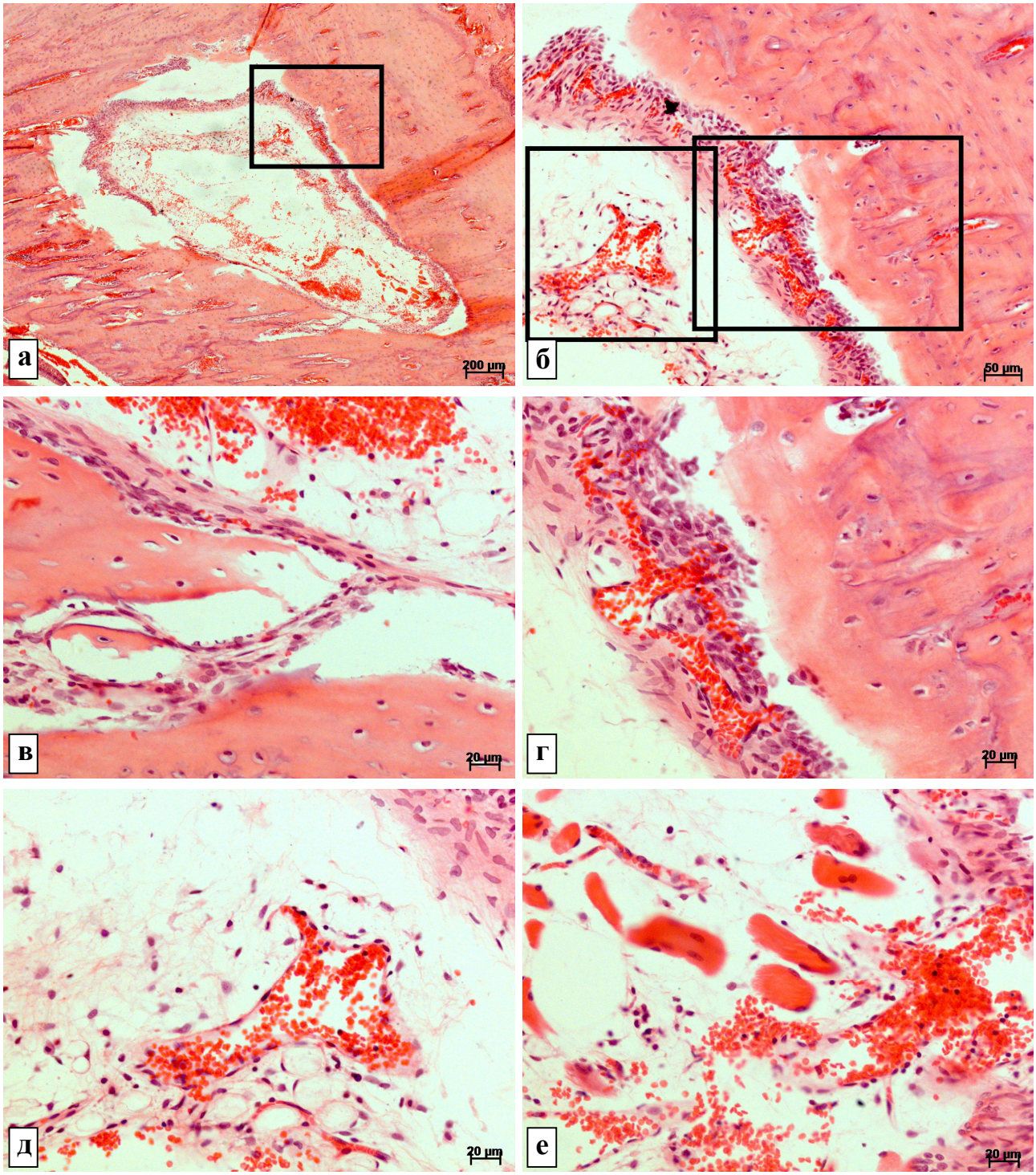


Рисунок 22 – Результаты применения БТФС с АПСККП спустя 1 неделю после операции. Окраска гематоксилином и эозином. а, б, в, г, д - Весь участок повреждения с краев отграничен соединительной тканью с грануляциями, центр дефекта остается практически пустым, присутствуют небольшие фрагменты жировой или рыхлой волокнистой соединительной ткани с большим числом кровеносных сосудов. е – В соединительной ткани в дефекте присутствую крупные многоядерные клетки с эозинофильной цитоплазмой.

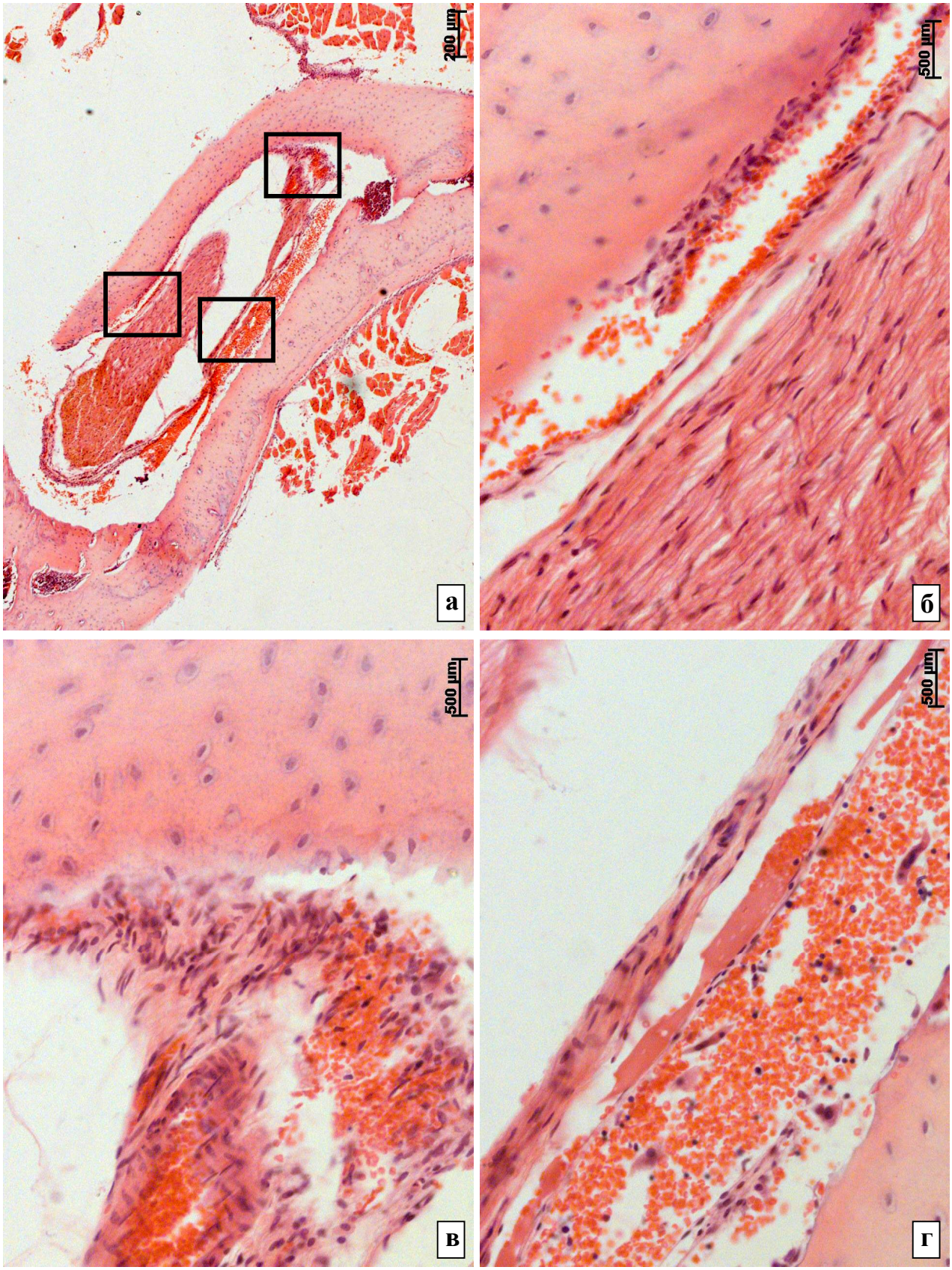


Рисунок 23 – Дефект кости нижней челюсти через 2 недели после операции и введения БТФС с АПСККП. Участок повреждения заполнен рыхлой волокнистой соединительной тканью с очень широкими кровеносными сосудами и с участками геморрагий. По краю этих структур присутствуют островки формирующейся костной ткани. В центре дефекта образовалась соединительная ткань, сходная по строению с надкостницей. Окраска

гематоксилином и эозином.

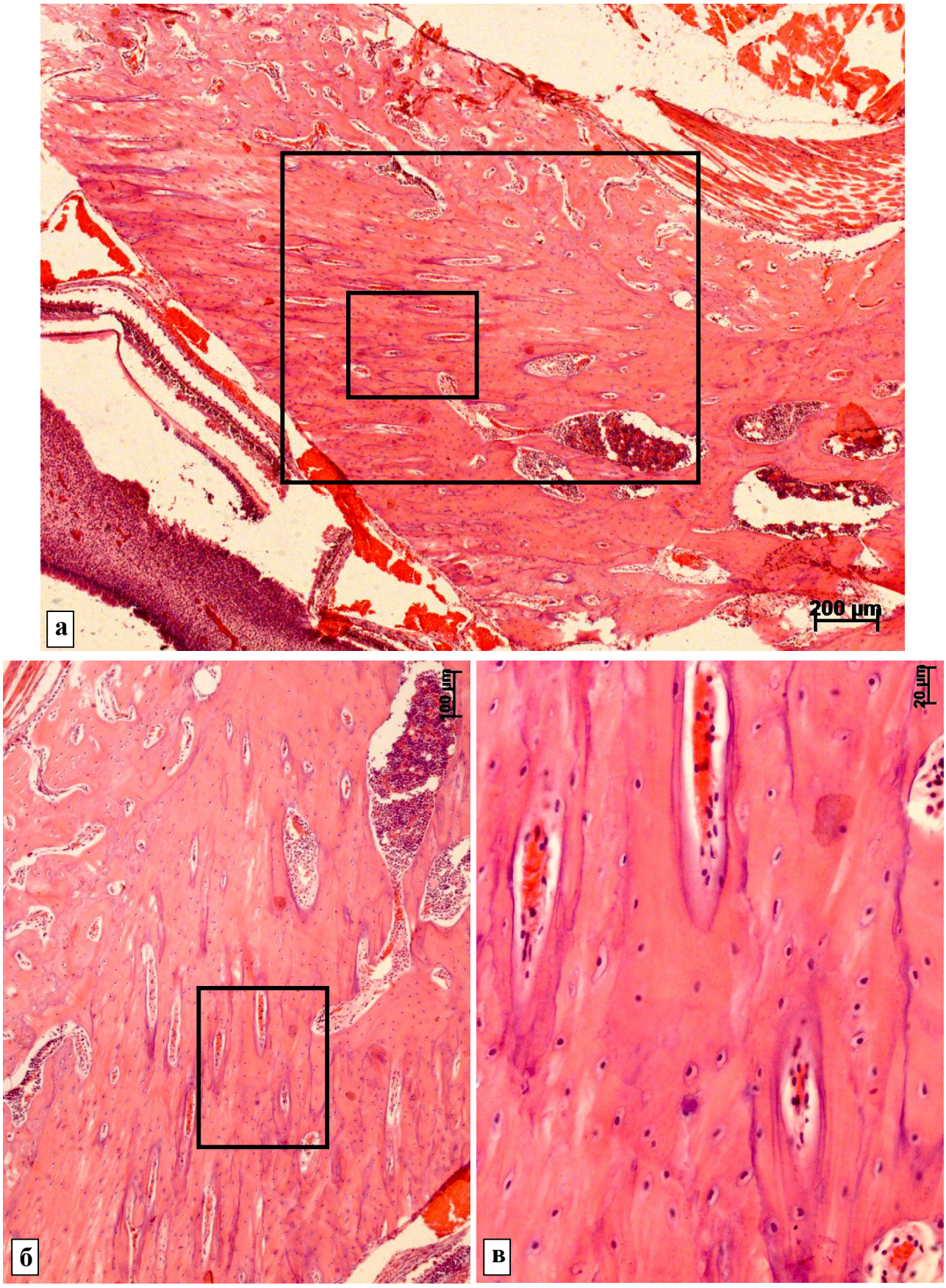


Рисунок 24 – Результаты применения БТФС с АПСККП спустя 3 недели после операции. Окраска гематоксилином и эозином. а - Дефект кости нижней челюсти полностью закрыт молодой костной тканью. б – Сформированные полости с красным костным мозгом. в – Структуры костной мозоли.

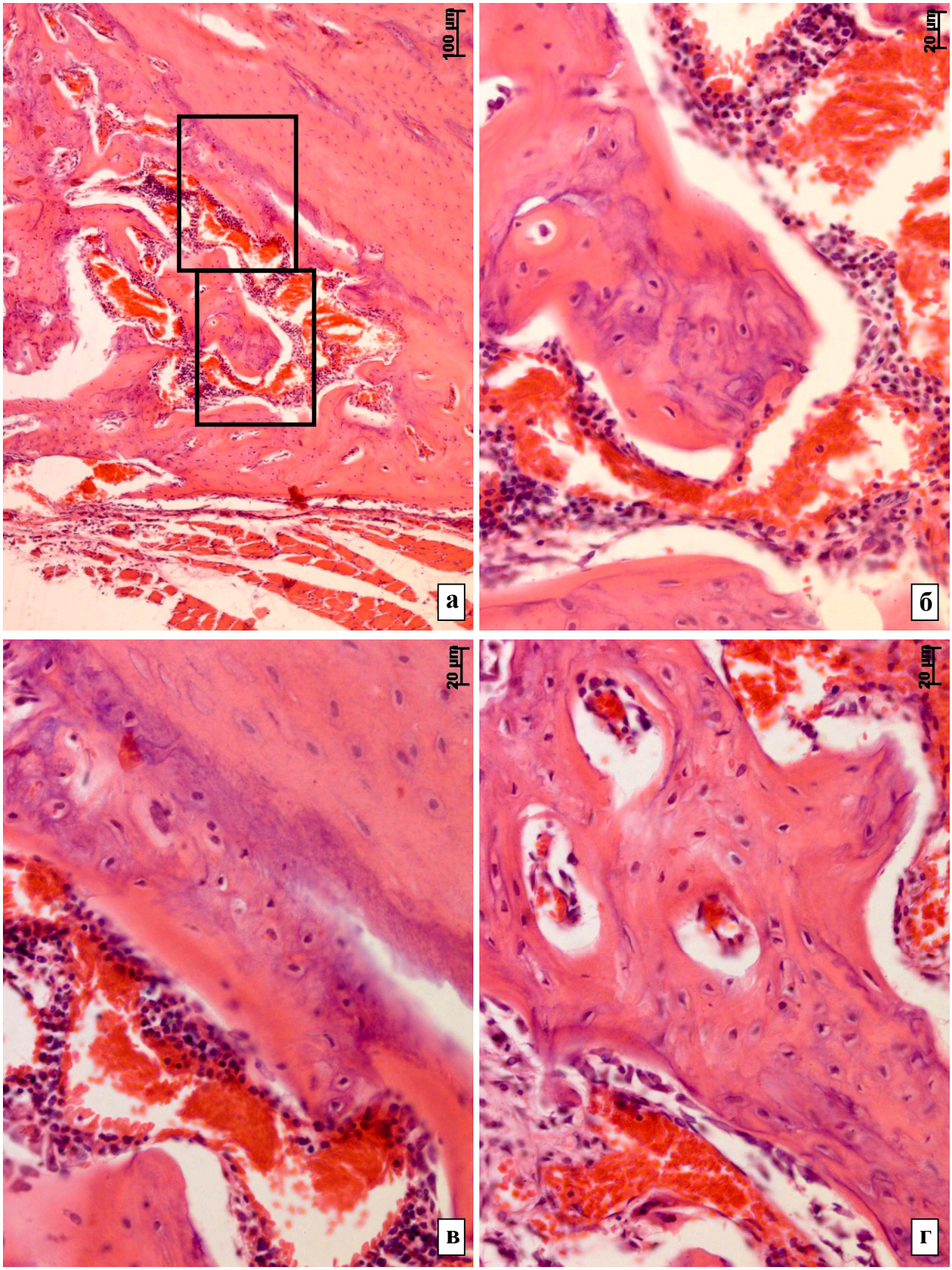


Рисунок 25 – Дефект кости нижней челюсти через 3 недели после операции и введения БТФС с АПСККП. Костная ткань с хаотично расположенными структурами костной мозоли в центре участка повреждения практически полностью отделена от краев дефекта из-за формирования обширных полостей с красным костным мозгом. Окраска гематоксилином и эозином.

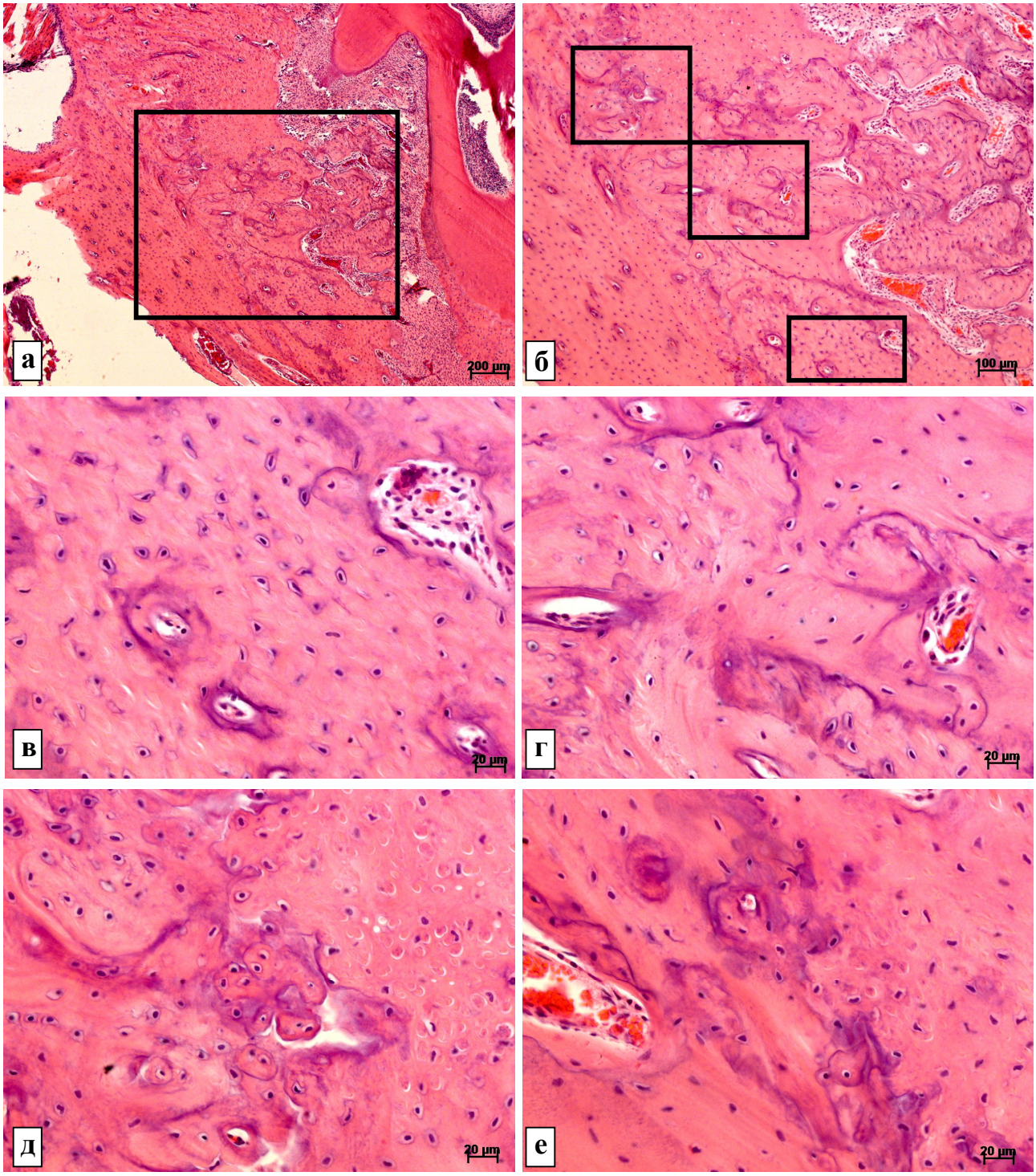


Рисунок 26 – Результаты применения БТФС с АПСККП спустя 4 недели после операции. Дефект костной ткани нижней челюсти полностью закрыт костной тканью, отличающейся от окружающей кости хаотично расположенными балками кости. Окраска гематоксилином и эозином.

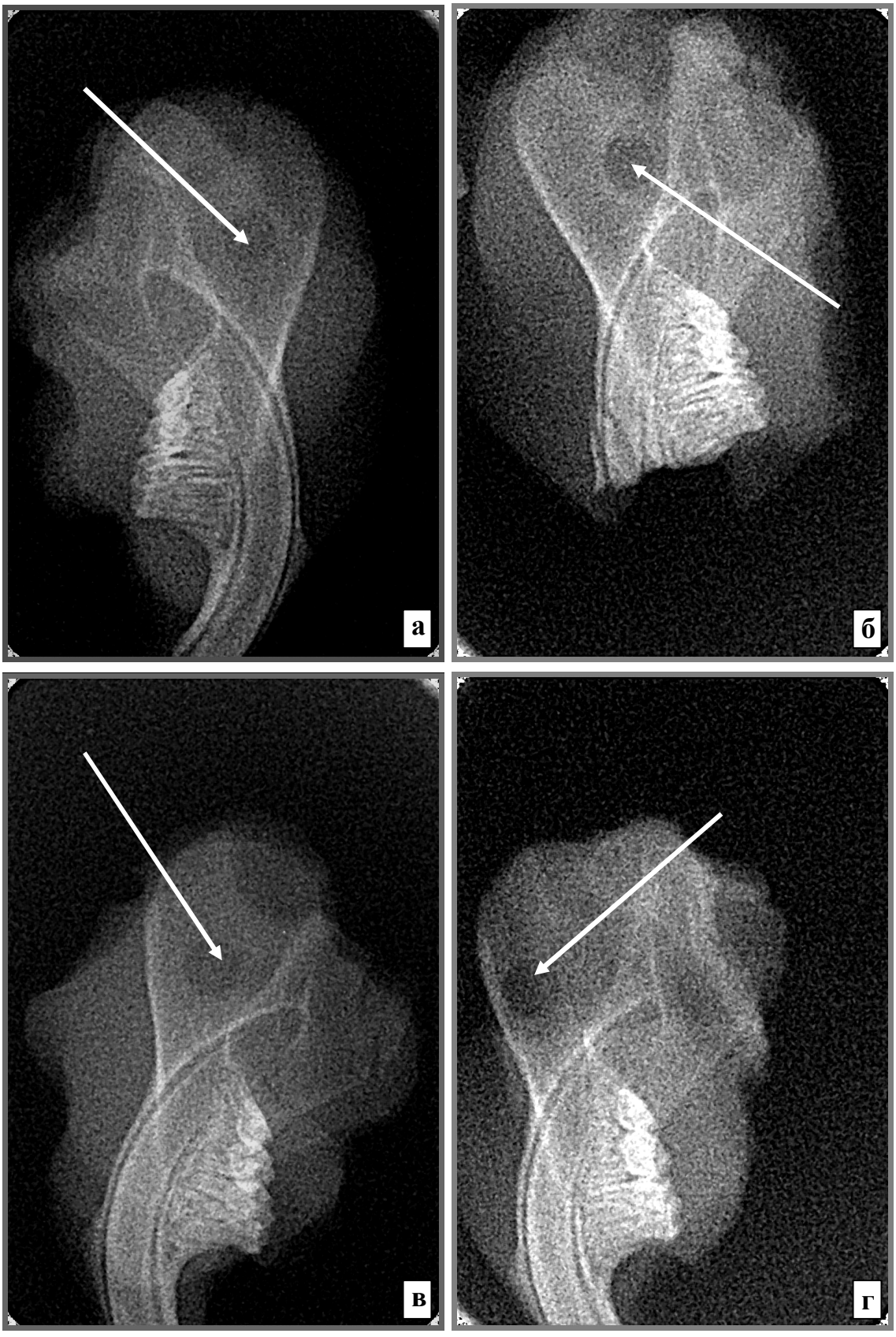


Рисунок 27 – Дефект кости нижней челюсти через 1 неделю после операции по данным радиовизиографического исследования. Искусственно созданное отверстие (указано стрелками) круглое, с четкими краями. Плотность тканей в дефекте при спонтанном заживлении и после применения АПСККП практически одинакова. а – Естественный ход регенерации. б – После применения БТФС. в – На фоне ведения АПСККП. г - После использования БТФС с АПСККП.

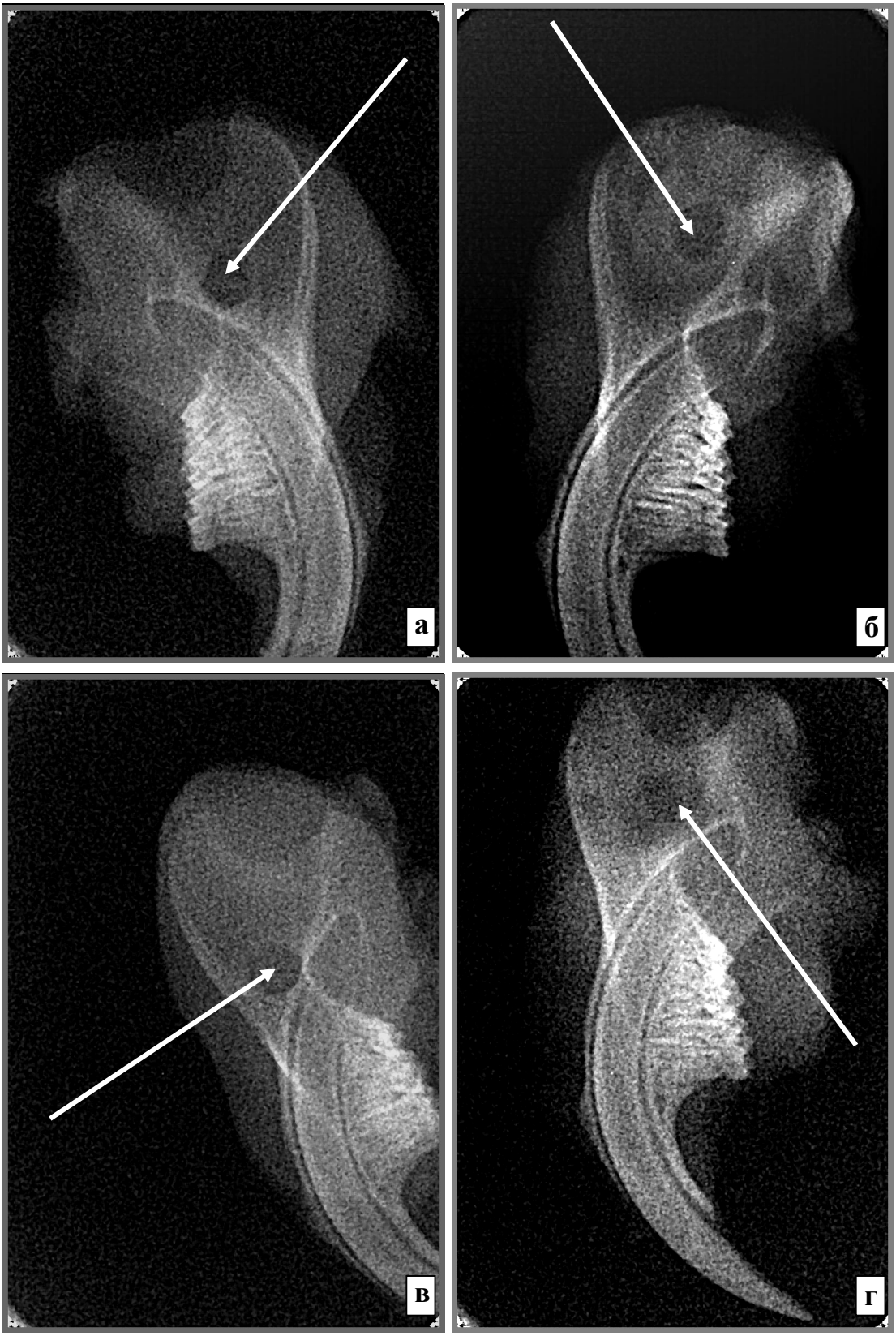


Рисунок 28 – Радиовизиографическое исследование участка повреждения кости нижней челюсти спустя 2 недели после операции. Искусственно созданное отверстие (указано стрелками) сохраняется. а – Естественный ход регенерации. б – После применения БТФС плотность тканей в дефекте выше. в - На фоне введения АПСККП плотность тканей выше, по сравнению с состоянием при естественной репарации и после применения клеток на предыдущий срок. г - После использования БТФС с АПСККП плотность тканей в дефекте максимальна.

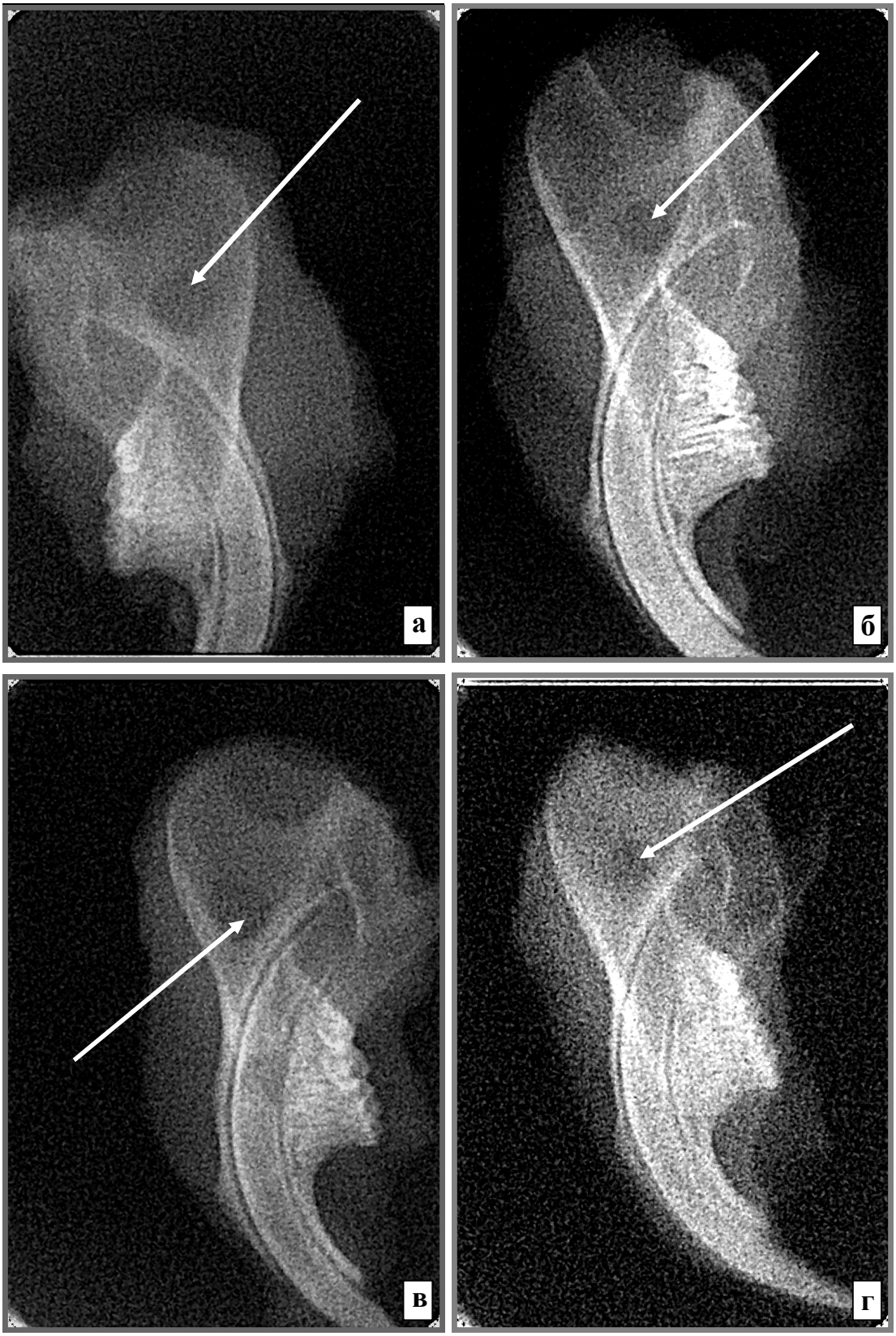


Рисунок 29 – Дефект кости нижней челюсти через 3 недели после операции по данным радиовизиографического исследования. Искусственно созданное отверстие (указано стрелками) сохраняется. а – Естественный ход регенерации. б – После применения БТФС плотность тканей в дефекте выше. в - На фоне введения АПСККП плотность тканей практически соответствует состоянию при естественной репарации, дефект несколько шире. г - После использования БТФС с АПСККП плотность тканей в дефекте максимальна.

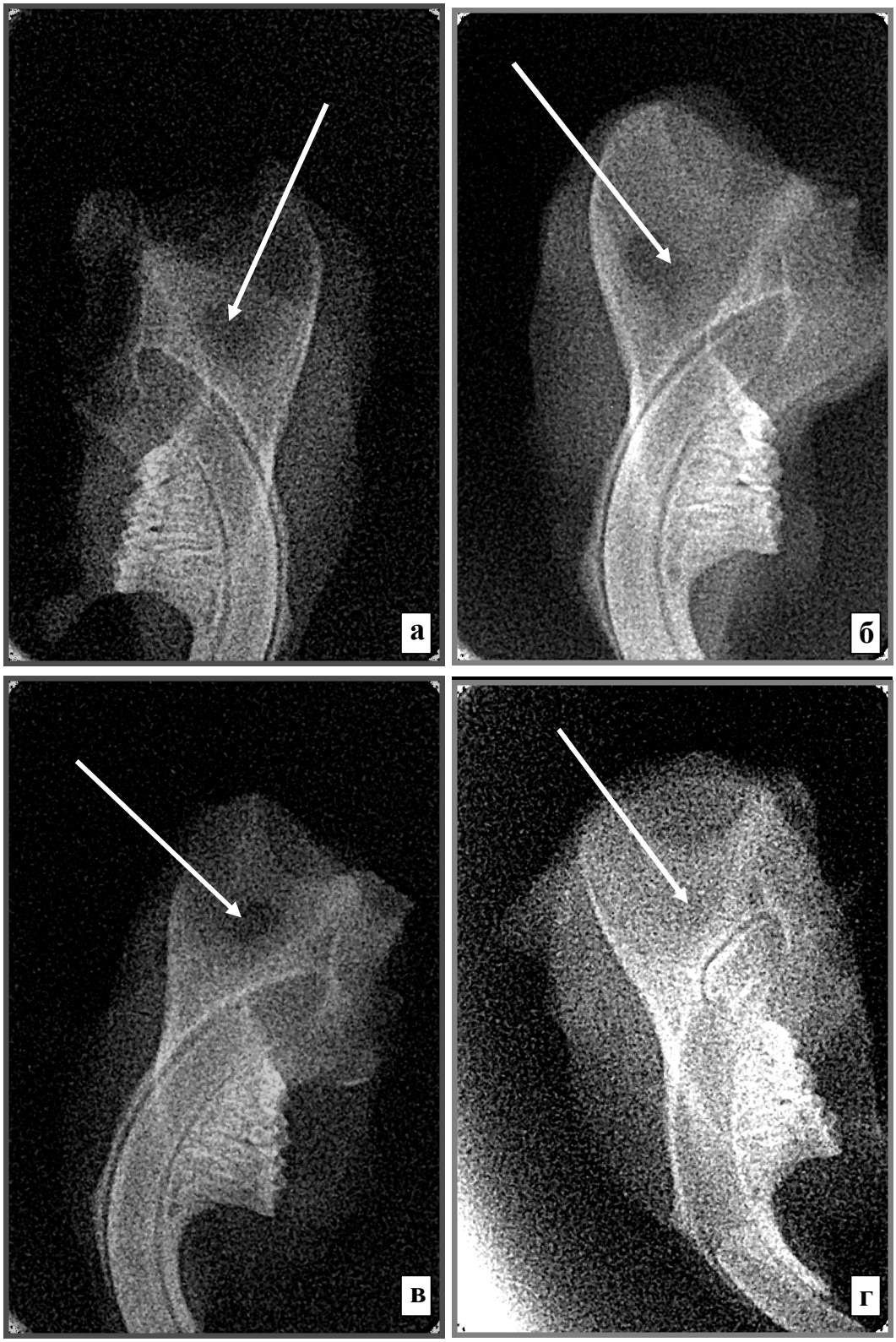


Рисунок 30 – Радиовизиографическое исследование участка повреждения кости нижней челюсти спустя 4 недели после операции. Искусственно созданное отверстие (указано стрелками) сохраняется. а – Естественный ход регенерации. б – После применения БТФС плотность тканей в дефекте выше, чем при естественном заживлении, но меньше, относительно предыдущего срока. в – На фоне введения АПСККП плотность тканей меньше, по сравнению с состоянием при естественной репарации и данными на предыдущий срок, само отверстие в кости шире. г – После использования БТФС с АПСККП плотность тканей в дефекте максимальна, дефект практически отсутствует.

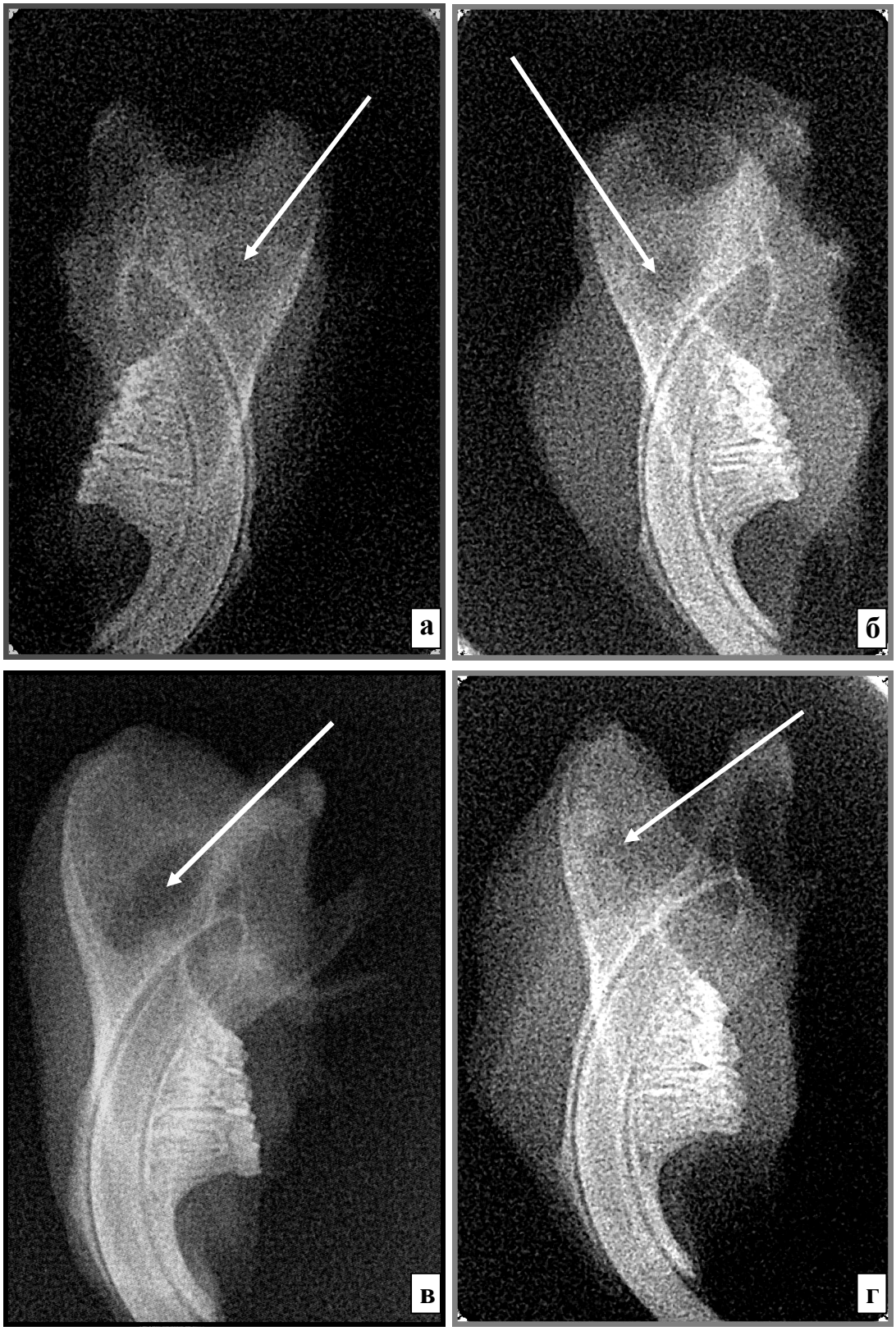


Рисунок 31 – Дефект кости нижней челюсти через 5 недель после операции по данным радиовизиографического исследования. Искусственно созданное отверстие (указано стрелками) сохраняется. а – Естественный ход регенерации, плотность тканей приближается к таковой на соседних участках. б – После применения БТФС плотность тканей в дефекте выше. в - На фоне введения АПСККП плотность тканей меньше, по сравнению с состоянием при естественной репарации и после применения клеток на предыдущий срок, само отверстие в кости шире. г - После использования БТФС с АПСККП отверстие практически отсутствует.